

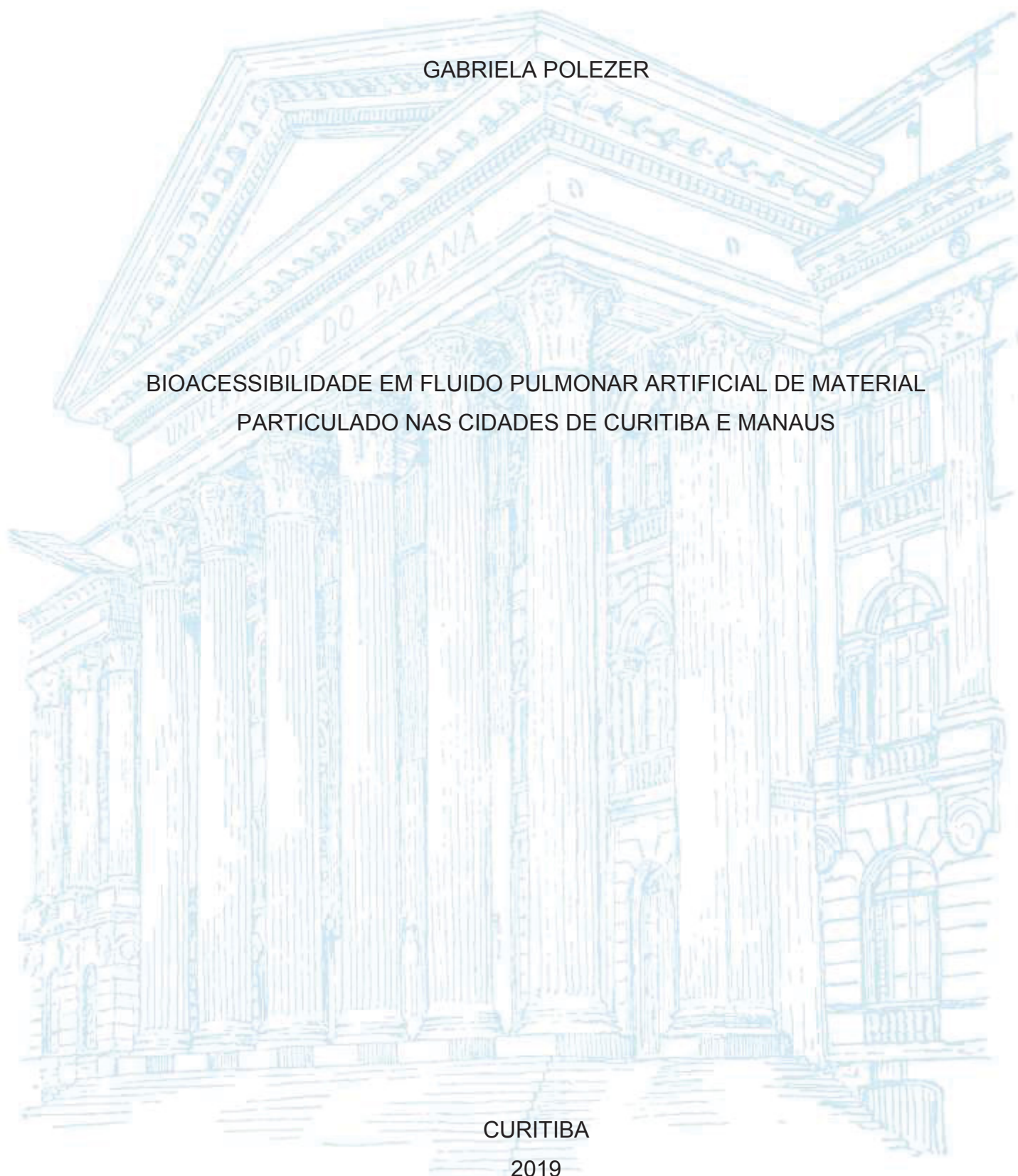
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GABRIELA POLEZER

BIOACESSIBILIDADE EM FLUIDO PULMONAR ARTIFICIAL DE MATERIAL  
PARTICULADO NAS CIDADES DE CURITIBA E MANAUS

CURITIBA

2019



GABRIELA POLEZER

BIOACESSIBILIDADE EM FLUIDO PULMONAR ARTIFICIAL DE MATERIAL  
PARTICULADO NAS CIDADES DE CURITIBA E MANAUS

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção de grau de Doutor. Área de concentração: Engenharia e Ciência dos Materiais, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais - PIPE. Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo H. Moreton Godoi.  
Co-orientadora: Profa. Dra. Andrea P. de Oliveira

CURITIBA  
2019

Catálogo na Fonte: Sistema de Bibliotecas,  
UFPR Biblioteca de Ciência e Tecnologia

P765b	<p>Polezer, Gabriela</p> <p>Bioacessibilidade em fluido pulmonar artificial de material particulado nas cidades de Curitiba e Manaus [recurso eletrônico] /Gabriela Polezer. – Curitiba, 2019.</p> <p>Tese – Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais - PIPE, 2019.</p> <p>Orientador: Ricardo Henrique Moreton Godoi. Coorientadora: Andrea Pinto de Oliveira.</p> <p>1. Ar - Poluição. 2. Metais - Toxicologia. 3. Saúde pública. I. Universidade Federal do Paraná. II. Godoi, Ricardo Henrique Moreton. III. Oliveira, Andrea Pinto. IV. Título.</p> <p>CDD: 363.7392</p>
-------	---

Bibliotecária: Vanusa Maciel CRB- 9/1928


## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **GABRIELA POLEZER** intitulada: **BIOACESSIBILIDADE EM FLUIDO PULMONAR ARTIFICIAL DE MATERIAL PARTICULADO NAS CIDADES DE CURITIBA E MANAUS**, sob orientação do Prof. Dr. RICARDO HENRIQUE MORETON GODOI, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua *Aprovação* no rito de defesa. A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.


CURITIBA, 18 de Dezembro de 2019.




RICARDO HENRIQUE MORETON GODOI  
Presidente da Banca Examinadora




RODRIGO FERNANDO COSTA MARQUES  
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE EST. PAULISTA JÚLIO DE  
MESQUITA FILHO/MARILIA)



CLAUDIA ELIANA BRUNO MARINO  
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)



LEILA DROGOSCHINSKI MARTINS  
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO  
PARANÁ - CAMPUS LONDRINA)



NELSON AUGUSTO ROSÁRIO FILHO  
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

## DEDICATÓRIA

A Cecília, minha linda princesa, que me fez ver a vida por uma nova perspectiva e reacendeu meu amor a pesquisa quando eu estava cansada e desanimada, que você e todas as crianças possam viver em um mundo melhor e mais cheio do verdadeiro amor de Jesus, em um mundo belo, saudável e preservado para as futuras gerações.

Ao Luiz, meu companheiro de vida, que foi fundamental nessa caminhada do doutorado e de maternidade, sempre compreensivo, me apoiando, sem o qual não teria sido possível o sucesso nessas duas empreitadas.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por ter me feito a pessoa que eu sou hoje, por todas as oportunidades colocadas na minha vida, por ter me sustentado e guiado nos momentos mais difíceis e pelas bênçãos de cada dia.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo Godoi, por todo o ensinamento, por ter acreditado em mim e em meu potencial, e pelos conselhos dados, tanto profissionais e acadêmicos quanto pessoais.

A Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Andrea P. Oliveira pela co-orientação, pela coragem em enfrentar o desafio que foi o trabalho com o GF AAS, um grande exemplo de dedicação a pesquisa e ensino.

Ao Luiz, por sempre me encorajar quando eu estava cansada, por me ensinar a assumir as minhas falhas, que me entende, me faz feliz e me completa sempre, um grande exemplo de vida para mim.

Aos meus pais e minhas irmãs, Rafa e Isa, por terem sido meu porto seguro.

A professora Sanja Potgieter-Vermaak pelo dedicado ensino a pesquisa desde meu intercâmbio em 2012, e auxílio no desenvolvimento dessa pesquisa.

Aos meus colegas de laboratório pela companhia de trabalho e apoio no desenvolvimento dessa pesquisa, Guilherme, Ariadna, Cybelli, Débora.

A Sarah pela amizade desde a graduação, laboratório, e que mesmo a distância continua a mesma.

A Patricia pela companhia nos momentos de desespero e felicidade com o GF AAS.

A minha irmã Isa e a minha querida amiga Rayra por dividir comigo desde do mestrado os dias, pelos momentos de descontração e companhia.

À banca examinadora, por ter aceitado o convite de apresentação e arguição deste trabalho de tese de doutorado.

Aos órgãos de fomento a pesquisa: Fundação Araucária que financiou o projeto viabilizando esta pesquisa, Capes pela bolsa concedida a mim.

Ao laboratório LACAUT<sub>ETS</sub> que forneceu espaço físico e materiais para realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos do curso de doutorado.

Você pode me empurrar do precipício...

E daí?

Eu adoro voar!

Clarice Lispector



## RESUMO

O desenvolvimento econômico e o crescimento urbano das cidades influenciam a dispersão atmosférica de poluentes, concentração, tamanho de partículas e composição, que afetam a saúde humana. A fração solúvel do material particulado fino (MP<sub>2,5</sub>) no fluido pulmonar (fração bioacessível) é considerada como uma das principais rotas de transporte de metais tóxicos, capazes de se acumular no sangue. Um número limitado de estudos *in vitro* de MP<sub>2,5</sub> em fluido lisossomal artificial (ALF) foi realizado usando diferentes tipos de poluentes para a via de inalação. No entanto, as possíveis consequências de várias fontes e das condições atmosféricas urbanas existentes não foram totalmente avaliadas nesses estudos. Para avaliar esses aspectos de forma contundente, duas cidades com localização geográfica e clima diferentes, e com distintas estratégias de desenvolvimento urbano foram usadas para ilustrar a influência que esses fatores têm sobre a composição química e o consequente destino do MP<sub>2,5</sub> no organismo humano. A fração bioacessível em ALF do MP<sub>2,5</sub> foi comparada durante os períodos de incubação de 1, 24 e 48 horas para as espécies Cu, Cr, Pb e Mn contidas nas amostras coletadas em Manaus, uma cidade industrial no centro da floresta amazônica e Curitiba, uma cidade planejada, um modelo internacional para o desenvolvimento sustentável. As concentrações atmosféricas médias totais foram: Mn > Pb > Cu > Cr e Pb > Mn > Cu > Cr para as cidades de Manaus e Curitiba, respectivamente. Mn e Cu apresentaram níveis até 5 vezes superiores em Manaus em relação aos encontrados em Curitiba. O procedimento *in vitro* utilizado nesse estudo revelou que as espécies de Mn apresentaram a menor solubilidade e a menor variação de fração solúvel entre todas as espécies investigadas, muito semelhante nas amostras de ambas as cidades. O cobre apresentou maior solubilidade em Curitiba que Manaus, sugerindo que, nesse caso, a fonte de tráfego de cobre pode ser mais prejudicial que a geração de energia térmica. Por outro lado, o Cr apresentou maior bioacessibilidade em Manaus que Curitiba, e o chumbo (Pb) foi o elemento com maior fração solúvel média entre todos os investigados nesta pesquisa. Este resultado é preocupante pela capacidade conhecida do Pb de se acumular nos tecidos do corpo, incluindo ossos e dentes. Os elementos avaliados na presente investigação apresentaram cinética máxima de dissolução no fluido ALF após um tempo de incubação de 1 hora, possibilitando o transporte da fração solúvel para o sistema circulatório. A população de Manaus está sujeita à poluição do ar e recebe aporte respiratório duas vezes (para Cu e Pb) e quatro vezes (para Cr e Mn) maior que a população de Curitiba, sugerindo que a comunidade de Manaus tem maior risco decorrente da exposição à poluição do ar, como câncer pulmonar e doenças neurológicas. Portanto, o desenvolvimento urbano e as diferentes atividades econômicas de Manaus e Curitiba desempenham papéis diferentes em relação aos riscos específicos da exposição à poluição do ar para o ser humano. Esses resultados indicam a importância de se controlar tanto a concentração total das emissões de poluentes atmosféricos quanto o tipo de espécies químicas bioacessíveis do MP<sub>2,5</sub> no fluido pulmonar.

**Palavras-chave:** MP<sub>2,5</sub>. Elementos metálicos. Saúde humana. Bioacessibilidade. Fluido lisossomal artificial. Fluido pulmonar artificial.



## ABSTRACT

Economic development and urban growing fate on the atmospheric pollutants dispersion, concentration, size fraction, and content, therefore also impact on human health. The soluble fraction of fine particulate matter (PM<sub>2.5</sub>) present in the lung fluid of humans (i.e., the bioaccessible fraction) has been considered as one of the main transport conduits of particle-phase heavy metals capable of accumulating in human blood. A limited number of *in vitro* PM<sub>2.5</sub> studies in artificial lysosomal fluid (ALF) have been carried out using different kinds of pollutants through inhalation routes. Nevertheless, the possible consequences of various sources and prevailing urban atmospheric conditions were not fully accessed in these studies. To address this issue, two cities of different geographical location and climate, and with different urban development strategies were used to illustrate the influence that these factors have on the chemical composition and consequent fate of PM<sub>2.5</sub> in the body. The bioaccessible fraction of PM<sub>2.5</sub> was compared in ALF during incubation periods of 1, 24 and 48 hours for Cu, Cr, Pb and Mn species contained in samples collected in Manaus, an industrial city in the center of Amazon forest, and Curitiba, a planned city an international model for sustainable development. The total atmospheric mass concentrations were: Mn>Pb>Cu>Cr and Pb>Mn>Cu>Cr for the cities of Manaus and Curitiba, respectively. The highest concentrations of the analyzed species in Manaus were Mn and Cu which shown levels up to 5 times higher than that found in Curitiba. The *in vitro* procedure used in our study revealed that Mn species had the lowest solubility and the smallest variation of soluble fraction among all species investigated while presenting a soluble fraction very similar in the samples from both cities. Copper had higher solubility in Curitiba than Manaus, suggesting that in this case, the copper traffic source may be more harmful than the thermal power generation. On the other hand, Cr presented higher bioaccessibility in Manaus than Curitiba, and lead (Pb) was the element with higher soluble fraction average between all the investigated in this research. This result is very concerning due to the well-known capacity of Pb to accumulate in the hard tissues of the body, including bones and teeth. The elements examined in the present investigation have maximum dissolution kinetics in the ALF fluid after an incubation time of 1 hour, therefore enabling transport of the soluble fraction transport to the circulatory system. The Manaus population is subjected to air pollution exposure and receives a respiratory intake two times (for Cu and Pb) and four times (for Cr and Mn) greater than the population of Curitiba, suggesting that the Manaus community is at a higher risk of toxic health effects from air pollution exposure, such as pulmonary cancer and neurological effects. Therefore, urban development and the differing main economic activities of Manaus and Curitiba play different roles regarding the specific risks of human air pollution exposure. These findings point out the importance of controlling both the total concentration of pollutant emissions as well as the type of PM<sub>2.5</sub> bioaccessible species in the lung fluid.

**Keywords:** PM<sub>2.5</sub>, metallic elements. Human health. Bioaccessibility. Artificial lysosomal fluid. Artificial lung fluid.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - COMPARAÇÃO DE TAMANHO ENTRE FIO DE CABELO, AREIA FINA, MP <sub>10</sub> E MP <sub>2,5</sub> .....	23
FIGURA 2 - DISTRIBUIÇÃO DO NÚMERO E MASSA DAS PARTÍCULAS DO MATERIAL PARTICULADO DE ACORDO COM SEU TAMANHO.....	24
FIGURA 3 - DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DO MP DE ACORDO COM A FONTE EMISSORA .....	25
FIGURA 4 - DESCRIÇÃO DO SISTEMA RESPIRATÓRIO E A DEPOSIÇÃO DAS PARTÍCULAS NO PULMÃO .....	28
FIGURA 5 - AMOSTRADOR INERCIAL HARVARD .....	46
FIGURA 6 - LOCAL DE AMOSTRAGEM DO MP <sub>2,5</sub> EM MANAUS .....	48
FIGURA 7 - LOCAL DE AMOSTRAGEM DO MP <sub>2,5</sub> EM CURITIBA .....	48
FIGURA 8 - AMOSTRAS DE MP <sub>2,5</sub> INSERIDAS EM TUBOS TIPO FALCON UTILIZADOS NO ENSAIO <i>IN VITRO</i> DE BIOACESSIBILIDADE COM FLUIDO ALF. ....	53
FIGURA 9 - FLUXOGRAMA DO ENSAIO <i>IN VITRO</i> DE AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE DE Cu, Cr, Pb E Mn OBTIDOS DE AMOSTRAS DE MP <sub>2,5</sub> EM CURITIBA E MANAUS NO FLUIDO PULMONAR ARTIFICIAL (ALF).....	55
FIGURA 10 - CURVAS DE ABSORBÂNCIA POR TEMPERATURAS DE PIRÓLISE E ATOMIZAÇÃO .....	60
FIGURA 11 - INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DE PIRÓLISE (Tp) (Ta FIXA EM 2300 °C) E TEMPERATURA DE ATOMIZAÇÃO (Ta) (Tp FIXA EM 1100 °C) NA ABSORBÂNCIA DO Cu NA MATRIZ FORTIFICADA COM 25 µg L <sup>-1</sup> Cu NA PRESENÇA DE MODIFICADOR QUÍMICO (5 µg Pd : 0.5 µg Mg).....	66
FIGURA 12 - INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DE PIRÓLISE (Tp) (Ta FIXA EM 2200 °C) NA ABSORBÂNCIA DO Mn NA MATRIZ FORTIFICADA COM 25 µg L <sup>-1</sup> Mn NA PRESENÇA DE MODIFICADOR QUÍMICO (2 µg Mg) .....	67

FIGURA 13 - INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DE PIRÓLISE ( $T_p$ ) ( $T_a$ FIXA EM 2300 °C) E TEMPERATURA DE ATOMIZAÇÃO ( $T_a$ ) ( $T_p$ FIXA EM 1550 °C) NA ABSORBÂNCIA DO Cr NA MATRIZ FORTIFICADA COM 25 $\mu\text{g L}^{-1}$ Cr NA PRESENÇA DE MODIFICADOR QUÍMICO (2 $\mu\text{g Mg}$ ) .....	69
FIGURA 14 - DIAGRAMA DE PARETO PARA O ESTUDO DA SIGNIFICÂNCIA DOS FATORES AVALIADOS SOBRE O VALOR DE RECUPERAÇÃO DE Pb NA MATRIZ ALF EM COMPARAÇÃO COM A SOLUÇÃO PADRÃO EM NÍVEL DE CONCENTRAÇÃO DE 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ , EMPREGANDO-SE PLANEJAMENTO FATORIAL $2^4$ COM PONTO CENTRAL.....	71
FIGURA 15 - GRÁFICO DE CONTORNO 2D PARA OS VALORES DE RECUPERAÇÃO (%) DE Pb NA MATRIZ ALF, PELA VARIAÇÃO DAS TEMPERATURAS DE PIRÓLISE (°C) E ATOMIZAÇÃO (°C) NO GF AAS.....	73
FIGURA 16 - MAPA FERROVIÁRIO NA REGIÃO DA CIDADE DE CURITIBA E O PORTO DE PARANAGUÁ, COM O LOCAL DE AMOSTRAGEM INDICADO PELA SETA VERDE .....	79
FIGURA 17 - A) LOCAL DE AMOSTRAGEM (VERMELHO), REGIÃO INDUSTRIAL (AMARELO) B) USINAS TERMELÉTRICAS (LARANJA) EM MANAUS .....	80
FIGURA 18 - ROSA DOS VENTOS DE MANAUS (A) E CURITIBA (B) PARA OS PERÍODOS DE AMOSTRAGEM .....	80
FIGURA 19 - A) LOCAL DE AMOSTRAGEM (VERMELHO), REGIÃO INDUSTRIAL (AMARELO) B) USINAS TERMELÉTRICAS (LARANJA) EM CURITIBA .....	80
FIGURA 20 - GRÁFICOS BOXPLOT DA FRAÇÃO BIOACESSÍVEL ACUMULADA EM ALF (%) DE COBRE (A), MANGANÊS (B), CRÔMO (C) E CHUMBO (D) OBTIDOS POR 1, 24 E 48 HORAS DE INCUBAÇÃO EM MANAUS E CURITIBA NAS AMOSTRAS DE $\text{MP}_{2,5}$ .....	91
FIGURA 21- TAXA DE SOLUBILIZAÇÃO ( $\text{ng h}^{-1}$ ) POR TEMPO DE INCUBAÇÃO (HORAS) PARA Cu, Mn, Cr E Pb EM AMOSTRAS DE $\text{MP}_{2,5}$ DE MANAUS E CURITIBA EXPOSTAS AO FLUIDO PULMONAR SIMULADO ALF .....	96

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - RESUMO DOS PRINCIPAIS ELEMENTOS EMITIDOS POR FONTES DIVERSAS .....	26
TABELA 2 - RESUMO DOS EFEITOS ADVERSOS RELACIONADOS À POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA .....	27
TABELA 3 - CONCENTRAÇÕES LIMITES PARA MP <sub>2,5</sub> E Pb.....	30
TABELA 4 - TRABALHOS DA LITERATURA QUE INVESTIGARAM A BIOACESSIBILIDADE DE DIFERENTES TIPOS DE AMOSTRAS EM FLUIDO PULMONAR ARTIFICIAL DE DIFERENTES COMPOSIÇÕES .....	35
TABELA 5 - COMPOSIÇÃO (g L <sup>-1</sup> ) DOS FLUIDOS ARTIFICIAIS ALF E FG.....	37
TABELA 6 - BIOACESSIBILIDADE MÉDIA (BIO%) DE COBRE (CONTIDO EM MP) NOS FLUIDOS PULMONARES SIMULADOS ALF E FG NA LITERATURA.....	38
TABELA 7 - BIOACESSIBILIDADE MÉDIA (BIO%) DE CHUMBO (CONTIDO EM MP) NOS FLUIDOS PULMONARES SIMULADOS ALF E FG NA LITERATURA.....	39
TABELA 8 - BIOACESSIBILIDADE MÉDIA (BIO%) DE MANGANÊS (CONTIDO EM MP) NOS FLUIDOS PULMONARES SIMULADOS ALF E FG NA LITERATURA.....	40
TABELA 9 - BIOACESSIBILIDADE MÉDIA (BIO%) DE CRÔMO (CONTIDO EM MP) NOS FLUIDOS PULMONARES SIMULADOS ALF E FG NA LITERATURA.....	41
TABELA 10 - PROGRAMA DE AQUECIMENTO PARA A DETERMINAÇÃO DE Cu, Pb, Mn E Cr EM FLUIDO LISOSSOMAL ARTIFICIAL POR GF AAS. .	58
TABELA 11 - TEMPERATURA DE PIRÓLISE (Tp) E ATOMIZAÇÃO (Ta), E CONCENTRAÇÃO DE MODIFICADOR QUÍMICO Pd E Mg USADOS PARA DETERMINAÇÃO DE Pb EM DIFERENTES TIPOS DE AMOSTRAS NA LITERATURA POR GF AAS. ....	62
TABELA 12 - VALORES PARA OS NÍVEIS SUPERIOR (+) E INFERIOR (-) EMPREGADOS NO PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO PARA	

OS PARÂMETROS AVALIADOS NA DETERMINAÇÃO DE Pb POR GF AAS EM FLUIDO LISOSSOMAL ARTIFICIAL .....	62
TABELA 13 - COMPARAÇÃO DO VALOR MÉDIO E DESVIO PADRÃO CERTIFICADO PARA Cu, Cr, Mn E Pb DO MATERIAL DE REFERÊNCIA 2783 NIST COM VALORES OBTIDOS USANDO O EDXRF MINIPAL 4, E O DESVIO PADRÃO RELATIVO (RSD%) .....	64
TABELA 14 - LIMITES DE DETECÇÃO ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ ) E QUANTIFICAÇÃO ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ ) PARA Cu, Cr, Mn e Pb EM FILTRO DE POLICARBONATO NO EDXRF MINIPAL 4 .....	65
TABELA 15 - AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS INSTRUMENTAIS PARA a DETERMINAÇÃO DE Pb NO FLUIDO PULMONAR ALF POR GF AAS APLICANDO-SE O PLANEJAMENTO COMPOSTO CENTRAL (CCD). .....	72
TABELA 16 - VALORES DE ADIÇÃO E RECUPERAÇÃO PARA OS ELEMENTOS Cu, Cr, Mn E Pb NO FLUIDO PULMONAR ALF OBTIDOS EM CURVA ANALÍTICA DE MEIO AQUOSO COM A TÉCNICA GF AAS .....	74
TABELA 17 - PARÂMETROS ANALÍTICOS DOS MÉTODOS DESENVOLVIDOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE Cu, Mn, Pb E Cr NO FLUIDO PULMONAR SIMULADO POR MEIO DA TÉCNICA GF AAS.....	75
TABELA 18 - ASPECTOS ECONÔMICOS E SOCIAIS DE CURITIBA, REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA (RMC) E MANAUS .....	77
TABELA 19 - MÉDIA DESVIO PADRÃO (D.P.) E INCERTEZA DAS MEDIDAS DA CONCENTRAÇÃO DE $\text{MP}_{2,5}$ ( $\mu\text{g m}^{-3}$ ) E CONCENTRAÇÕES ATMOSFÉRICA TOTAL E SOLÚVEL (1, 24 E 48 HORAS DE INCUBAÇÃO EM FLUIDO PULMONAR SIMULADO ALF) ( $\text{ng m}^{-3}$ ) OBTIDAS PARA Cu, Mn, Cr E Pb EM AMOSTRAS DE $\text{MP}_{2,5}$ COLETADAS EM MANAUS E CURITIBA.....	83
TABELA 20 - CONCENTRAÇÕES (CONC) E FONTES DE Cu, Cr, Pb E Mn EM $\text{MP}_{2,5}$ COLETADAS EM DIFERENTES CIDADES RELATADAS EM LITERATURA ABERTA E COMPARADAS AO PRESENTE ESTUDO	86
TABELA 21- FRAÇÃO BIOACESSÍVEL DIÁRIA INALADA MÉDIA ( $\text{ng dia}^{-1}$ ) DE Pb, Cr, Cu E Mn DE $\text{MP}_{2,5}$ EM CURITIBA E MANAUS PARA CRIANÇAS (1 A 11 ANOS) E ADULTOS (> 11 ANOS).....	98

## LISTA DE SIGLAS

- ALF - *Artificial lysosomal fluid* (Fluido lisossomal artificial).
- EC - *European Commission* (Comissão da União Europeia).
- EDXRF - *Energy dispersive X-ray fluorescence spectroscopy* (Espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva).
- FG - *Gamble's solution* (Fluido Gamble).
- GF AAS - *Graphite furnace atomic absorption spectrometry* (Espectrometria de absorção atômica com forno de grafite).
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.
- INMET - Instituto Nacional de Meteorologia.
- LOD - Limite de detecção.
- LOQ - Limite de quantificação.
- MP - Material Particulado.
- MP<sub>0,01</sub> - Material Particulado de tamanho aerodinâmico menor que 0,01 µm.
- MP<sub>0,1</sub> - Material Particulado de tamanho aerodinâmico menor que 0,1 µm.
- MP<sub>1</sub> - Material Particulado de tamanho aerodinâmico menor que 1 µm.
- MP<sub>2,5</sub> - Material Particulado de tamanho aerodinâmico menor que 2,5 µm.
- MP<sub>10</sub> - Material Particulado de tamanho aerodinâmico menor que 10 µm.
- NIST - *National Institute of Standards and Technology* (Instituto de padrões e tecnologias dos Estados Unidos).
- TSP - *Total suspended particles* (Partículas totais em suspensão).
- USEPA - *United States Environmental Protection Agency* (Agência de proteção ambiental dos Estados Unidos).
- WHO - *World Health Organization* (Organização Mundial da Saúde).

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
1.1	HIPÓTESE .....	18
1.2	OBJETIVOS .....	18
1.2.1	Objetivo geral .....	18
1.2.2	Objetivos específicos.....	19
<b>2.</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>21</b>
2.1	MATERIAL PARTICULADO .....	21
2.1.1	Composição, características e fontes.....	21
2.1.2	Efeitos na saúde humana.....	26
2.1.3	Deposição no sistema respiratório .....	27
2.1.4	Diretrizes de qualidade do ar.....	29
2.1.5	Testes <i>in vitro</i> .....	31
2.2	ELEMENTOS QUÍMICOS EM FOCO.....	41
2.3	PLANEJAMENTO FATORIAL .....	43
<b>3.</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>45</b>
3.1	AMOSTRAGEM .....	45
3.2	LOCAIS E DATAS DE AMOSTRAGEM .....	47
3.2.1	Manaus.....	47
3.2.2	Curitiba .....	48
3.3	DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO TOTAL DOS METAIS DE INTERESSE NAS AMOSTRAS DE MP <sub>2,5</sub> .....	49
3.3.1	Instrumentação.....	49
3.3.2	Avaliação das Figuras de mérito .....	50
3.4	ENSAIO <i>IN VITRO</i> .....	51
3.4.1	Reagentes .....	51



3.4.2	Experimental .....	52
3.5	DETERMINAÇÃO DA FRAÇÃO SOLUBILIZADA DOS METAIS DE INTERESSE NO FLUIDO PULMONAR ARTIFICIAL .....	55
3.5.1	Instrumentação.....	55
3.5.2	Reagentes .....	58
3.5.3	Estratégias de otimização das condições instrumentais do GF AAS para os analitos. ....	59
3.5.4	Figuras de mérito .....	63
<b>4.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>64</b>
4.1	VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA A TÉCNICA EDXRF .....	64
4.2	OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES INSTRUMENTAIS DO GF AAS .....	65
4.2.1	Cobre.....	65
4.2.2	Manganês.....	67
4.2.3	Cromo.....	68
4.2.4	Chumbo.....	70
4.2.5	Figuras de Mérito .....	73
4.3	INFLUÊNCIA DAS CARACTERÍSTICAS GEOGRÁFICAS E SOCIOECONÔMICAS DE MANAUS E CURITIBA SOBRE AS EMISSÕES DE MP <sub>2,5</sub> .....	76
4.4	CONCENTRAÇÃO ATMOSFÉRICA TOTAL E SOLÚVEL DE CU, CR, MN E PB NAS AMOSTRAS DE MP <sub>2,5</sub> .....	82
4.5	BIOACESSIBILIDADE DE CU, CR, MN E PB NAS AMOSTRAS DE MP <sub>2,5</sub> .....	91
4.6	TAXA DE SOLUBILIZAÇÃO.....	95
4.7	FRAÇÃO BIOACESSÍVEL INALÁVEL EM PERSPECTIVA.....	96
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>102</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>103</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Os efeitos da poluição atmosférica na saúde humana têm sido relacionados na última década a aspectos socioeconômicos e urbanos das cidades (ZHONG et al., 2018; HE et al., 2019). O desenvolvimento econômico das cidades (e.x. indústrias, serviços e comércios) e o crescimento urbano levam a diminuição de áreas verdes, aumento da densidade do tráfego, demanda de energia elétrica, geração de resíduos e industrialização, que por sua vez sinergicamente afetam negativamente a qualidade do ar e consequentemente a saúde humana (CHO e CHOI, 2014; KANG, YOON e BAE, 2017; DENANT-BOEMONT, GAIGNÉ e GATÉ, 2018; CHOUNG e KIM, 2019). Além disso, pessoas com menores condições socioeconômicas costumam morar e trabalhar em áreas com níveis mais elevados de poluição em relação a outras regiões da cidade, e ter menor acesso a cuidados médicos (WONG et al., 2008; MILOJEVIC et al., 2017; LI et al., 2018b).

Neste contexto, Manaus (Estado do Amazonas) é a capital na região norte do Brasil cercada pela maior floresta tropical menos afetada pelo homem no mundo (Floresta Amazônica), supostamente uma área pristina e referência de lugar saudável. De outro lado, a capital do estado sul do Paraná, a cidade de Curitiba é próxima a um remanescente da Floresta Atlântica no litoral do estado do Paraná, e cercada por cidades da sua região metropolitana. Além das diferentes condições geográficas, as duas cidades também diferem nas estratégias de desenvolvimento urbano. Curitiba é reconhecida pelos esforços em relação ao desenvolvimento urbano sustentável (ONU, 2011), ganhou em 2010 o prêmio de cidade mais sustentável do mundo (*Globe Sustainable City Award*, (AWARD, 2010)) com implementações de infraestrutura urbana, serviços sociais eficientes e proteção ao meio ambiente. Como uma das cidades que mais cresceram no Brasil em meados do século 20, os administradores da cidade conseguiram superar os desafios do crescimento urbano pela arquitetura urbana inovadora, incluindo a criação de vários parques e áreas verdes, redes rodoviárias redesenhadas para o transporte público e melhoria na gestão de resíduos (HOLTZCLAW, 2004; CONKE e FERREIRA, 2015). Manaus, em contraste, sob ditadura militar, instalou uma zona industrial de livre comércio, a Zona Franca de Manaus (ZFM), resultando em um crescimento sem

precedentes, em grande parte não planejado (MARTIN et al., 2016). Considerando o ambiente pristino da floresta amazônica no entorno da cidade, estudos tem investigado os efeitos da intervenção humana na qualidade do ar e do meio ambiente (ABOU RAFEE et al., 2017; MEDEIROS et al., 2017; SHRIVASTAVA et al., 2019). Por essas razões, as duas cidades oferecem cenários diferentes para avaliar as possíveis consequências que a qualidade do ar tem na saúde das populações.

Nesse sentido, o conhecimento do impacto de diferentes fontes de poluição do ar e seus efeitos na saúde humana é estratégico para o desenvolvimento de políticas regulatórias que orientem os municípios para o planejamento sustentável do desenvolvimento urbano. É bem conhecido que a exposição humana ao material particulado (MP) é prejudicial à saúde (LANDRIGAN et al., 2018). Durante a última década, os cientistas começaram a investigar não apenas a ligação entre a concentração mássica de MP e a saúde humana, mas também sua composição elementar e sua fração bioacessível (a fração solúvel em fluidos corpóreos artificiais) (COLOMBO, MONHEMIUS e PLANT, 2008).

Estudos *in vitro* podem ser utilizados para determinar a bioacessibilidade do MP, que é influenciado por suas propriedades físicas e químicas (ex: tamanho, composição elementar, entre outros). As partículas de tamanho aerodinâmico menor que 2,5  $\mu\text{m}$  (MP<sub>2,5</sub>) podem se depositar no sistema respiratório podendo induzir estresse oxidativo no pulmão (NIU et al., 2010; ANGELE-MARTINEZ, GOODMAN e BRUMAGHIM, 2014), se solubilizar e eventualmente alcançar a corrente sanguínea, através da região de trocas gasosas nos alvéolos (GUNEY et al., 2017). Dessa forma, o conteúdo do MP<sub>2,5</sub> pode ser transportado para outras regiões do corpo humano gerando efeitos sistêmicos, como o aumento do risco relativo de internações por acidentes vasculares cerebrais por habitante de uma cidade (NASCIMENTO et al., 2012).

Além do tamanho das partículas, o tempo de permanência das partículas inaladas é crítico. Tipicamente, mecanismos de depuração mucociliar ou translocação, eliminam 85% das partículas dentro de 24 horas da via aérea da árvore brônquica (HOFMANN e ASGHARIAN, 2003; GUNEY et al., 2017). Na região alveolar, prevalece a fagocitose de macrófagos (condições mais ácidas dos processos inflamatórios). Por último, a composição química e especiação do MP

determinará as taxas de dissolução e extensão, que serão evidentemente influenciadas por fontes de poluição (atividades econômicas), condições geográficas e climáticas, e estratégias de mitigação. Para fins *in vitro*, a composição do fluido pulmonar é importante, e o fluido lisossomal artificial (ALF) é o fluido pulmonar sintético que mais se aproxima das condições do ambiente pulmonar durante o processo de defesa corpo com a fagocitose devido a entrada de um corpo estranho (como o MP) no organismo (MIDANDER et al., 2007; COLOMBO, MONHEMIUS e PLANT, 2008).

Embora existam estudos *in vitro* investigando a fração bioacessível de partículas inaláveis de diferentes origens, expostas a várias composições de fluido pulmonar artificial (MIDANDER et al., 2007; COLOMBO, MONHEMIUS e PLANT, 2008; BEESTON et al., 2010; GRAY et al., 2010; HEDBERG et al., 2010; NIU et al., 2010; JULIEN et al., 2011; POTGIETER-VERMAAK et al., 2012; ZEREINI, WISEMAN e PUTTMANN, 2012; MUKHTAR, MOHR e LIMBECK, 2015; GOIX et al., 2016) poucos estudos investigaram o MP<sub>2,5</sub> exposto ao ALF. Além disso, os estudos disponíveis como os de Wiseman e Zereini (2014) e Li et al. (2016) em Frankfurt, Alemanha e Nanjing, China, respectivamente, não avaliaram diferenças de bioacessibilidade em ALF com o desenvolvimento urbano.

Isto posto, Manaus e Curitiba foram escolhidas como duas áreas urbanas com tamanho de população semelhante porém diferentes características urbanas, para comparação entre as diferentes fontes de emissões de MP<sub>2,5</sub> e os possíveis efeitos na saúde das populações por meio da bioacessibilidade dos elementos Cu, Cr, Pb e Mn contidos no MP<sub>2,5</sub> no fluido pulmonar simulado ALF. Além disso, os elementos químicos de interesse a este estudo: Cu, Cr, Pb e Mn, foram escolhidos de acordo com trabalhos realizados anteriormente nas cidades estudadas e por suas características de toxicidade e carcinogenicidade.

## 1.1 HIPÓTESE

A primeira hipótese deste estudo é que o  $MP_{2,5}$  contém elementos químicos, como por exemplo Cu, Cr, Mn e Pb, que variam em diferentes concentrações entre si, e entre diferentes cidades como consequência de diferentes fontes de emissão. Tais fontes de poluentes atmosféricos resultam do desenvolvimento sócio-econômico e urbano de cada cidade.

Além disso, existe uma diferenciação de especiação química e solubilidade das partículas durante o tempo de residência na atmosfera, através do processo de envelhecimento dos aerossóis, por transformações químicas durante e/ou após a emissão (ZEREINI, WISEMAN e PUTTMANN, 2012). Dessa forma, é fundamental o conhecimento da solubilidade específica dos aerossóis e seus conteúdos metálicos em fluido pulmonar (bioacessibilidade), já que esta é a principal rota de acesso dos aerossóis a região alveolar do ser humano.

Por isso, a segunda hipótese é que os elementos químicos contidos no  $MP_{2,5}$ , após serem inalados pelo homem, são solubilizados no fluido pulmonar; e sua fração solúvel (bioacessibilidade) e taxa de solubilização (tempo) são dependentes também das fontes de emissão da poluição atmosférica urbana.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo geral

Este estudo objetiva comparar fontes de aerossóis e distintos modelos de desenvolvimento urbano por meio da análise do aerossol nas cidades de Manaus e Curitiba, e os efeitos sobre a concentração do conteúdo inorgânico tóxico (elementos metálicos Cu, Cr, Mn e Pb) do  $MP_{2,5}$  e sobre a bioacessibilidade desses elementos no fluido pulmonar simulado ALF a partir de um ensaio *in vitro*.

### 1.2.2 Objetivos específicos

- Amostragem de  $MP_{2,5}$  nas cidades de Curitiba e Manaus utilizando o amostrador de impactação inercial Harvard, para comparação entre as cidades do conteúdo químico inorgânico do aerossol finototal e solúvel em fluido pulmonar artificial;
- Determinação da concentração total dos elementos químicos Cu, Cr, Pb e Mn, presentes no  $MP_{2,5}$  por espectrofotometria de fluorescência de raios X;
- Realizar ensaio *in vitro* de bioacessibilidade com as amostras coletadas de  $MP_{2,5}$  no fluido pulmonar simulado Fluido Artificial Lisossomal (ALF) na temperatura de 37 °C utilizando incubadora de bancada de agitação orbital simulando as condições que essas partículas estariam submetidas no corpo humano e que levariam os elementos químicos analisados a se solubilizarem no fluido pulmonar humano;
- Comparar os níveis de tais elementos tóxicos na atmosfera das duas cidades, assim como, das concentrações dos elementos solubilizados no ensaio *in vitro*;
- Desenvolver métodos analíticos para a quantificação dos elementos químicos Cu, Cr, Pb e Mn solubilizados na matriz ALF pela técnica espectrométrica GF AAS, devido a especificidade e complexidade dessa matriz analisada;
- Determinar a concentração solubilizada dos elementos químicos Cu, Cr, Mn e Pb na matriz ALF utilizando a técnica GF AAS para as amostras de Curitiba e Manaus em diferentes tempos de incubação (1h, 24 h e 48h) para conhecer o tempo em que a maior parte da solubilização ocorreria;
- Comparar a fração solúvel de Cu, Cr, Pb e Mn no fluido pulmonar artificial ALF de duas cidade com diferentes modelos de desenvolvimento socioeconômicos e urbanos, Manaus: uma cidade industrial rodeada pela floresta Amazônica, e Curitiba: uma cidade planejada com modelo internacional para desenvolvimento sustentável;
- Simular a fração bioacessível diária inalada média de cada elemento químico analisado do  $MP_{2,5}$  para dois grupos de diferentes faixas etárias da população (crianças e adultos) em Curitiba e Manaus.

- Avaliar o impacto que desenvolvimentos econômicos e planejamento urbano têm sobre os efeitos na saúde de cada população como resultado de duas condições: a fração solúvel específica dos quatro elementos químicos (Cu, Cr, Pb e Mn) do  $MP_{2,5}$  como consequência do tipo de fonte de emissão; e o nível de concentração atmosférica dessa substância encontrada em cada cidade como resultado da concentração do elemento químico emitido pela fonte (que pode variar com a hora do dia, os dias da semana ou eventos específicos), bem como as condições atmosféricas de dispersão, etc.



## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 MATERIAL PARTICULADO

Os poluentes atmosféricos são classificados em duas classes principais de acordo com o seu estado físico, poluentes gasosos e particulados. Os poluentes gasosos de maior preocupação na atualidade são  $\text{SO}_2$ ,  $\text{NO}_x$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{O}_3$ ,  $\text{COV's}$ , gerados principalmente da combustão de veículos podendo ser encontrados com facilidade em meios urbanos (WHO, 2015).

Tanto os poluentes gasosos como os particulados possuem diferentes escalas de atuação, indo desde escalas locais até a escala global dependendo em grande parte do seu tempo de vida na atmosfera.

Na escala local encontra-se poluentes que possuem tempo de vida muito curto na atmosfera, próximos às fontes de emissão, como por exemplo em plantas industriais. Também existe a escala urbana, que diz respeito à presença de um poluente de forma homogênea em cidades, enquanto no meio rural esses poluentes estão em concentrações significativamente reduzidas. Alguns gases e partículas finas possuem uma vida atmosférica de dias a semanas, podendo ser transportados em escalas regionais. Já em escala global, encontram-se os poluentes que possuem anos de permanência na atmosfera como  $\text{CH}_4$  (WHO, 2015).

#### 2.1.1 Composição, características e fontes

O MP é uma mistura complexa e altamente variável de partículas e líquidos, que pode ser transportada por longas distâncias e pode ser gerada tanto por fontes antropogênicas (queima de combustível veicular, queimadas agrícolas, aquecimento de casas com combustíveis fósseis ou biogênicos, processos industriais, etc.) e/ou fontes naturais (erupções vulcânicas, ação do vento, etc.) (DAVIDSON, PHALEN e SOLOMON, 2005).

Nas últimas décadas muitos estudos buscaram prever as possíveis fontes, comportamentos, efeitos e distribuições do material particulado (MP) em ordem de estabelecer o tipo e extensão do impacto que este teria no ambiente e na saúde

humana (KAVOURAS et al., 2001; TANNER, MA e YU, 2008; VIANA et al., 2008; STRANGER, POTGIETER-VERMAAK e VAN GRIEKEN, 2009; LEE e HIEU, 2011).

As partículas do MP são formadas pela mistura de ácidos, compostos orgânicos, partículas de solo, metais e partículas biogênicas (USEPA, 2013), podendo ter diferentes tamanhos e formas.

Quando emitido diretamente da fonte para a atmosfera, o MP é chamado de partícula primária. Dessa forma, quando se tem conhecimento do mecanismo de geração de uma partícula primária, o monitoramento dessa partícula leva ao monitoramento da fonte. A partir do momento que o MP sofre algum tipo de transformação na atmosfera (com ou sem presença de fase gasosa), passa a ser chamado de partícula secundária. A formação de poluentes secundários ocorre por meio de reações químicas entre poluentes primários, geralmente com a presença de componentes naturais da atmosfera, como oxigênio e água. O entendimento da formação do MP auxilia em grande parte a geração de inventários de qualidade do ar (WHO, 2010).

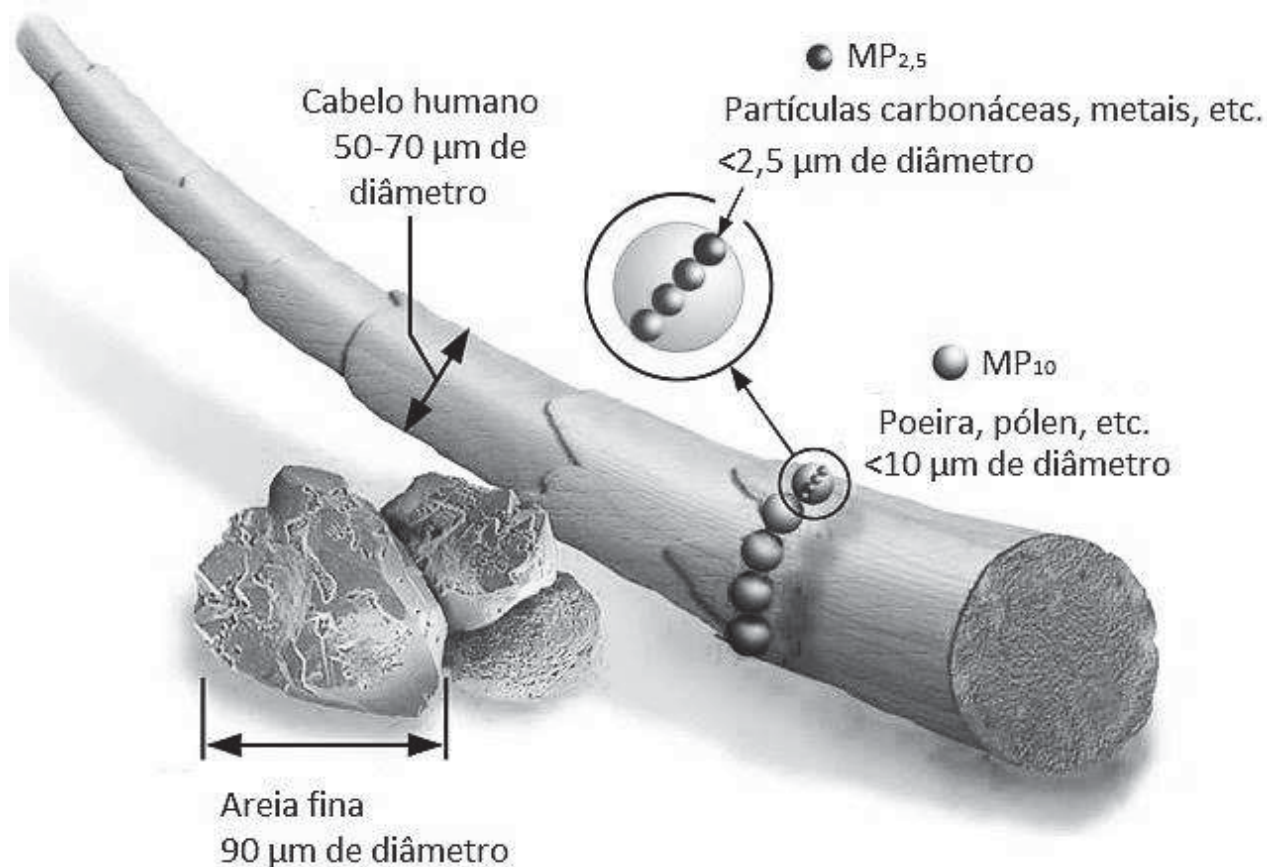
Segundo a US EPA (USEPA, 2008), partículas no ar podem ser chamadas de MP quando estas têm diâmetro entre 0,001  $\mu\text{m}$  e 100  $\mu\text{m}$ . Partículas de diâmetro menor que 0,001  $\mu\text{m}$  se comportam de maneira similar a gases, e partículas de diâmetro maior que 100  $\mu\text{m}$  são facilmente removidas da atmosfera por deposição e dificilmente emitidas como poluente atmosférico.

Devido às diferentes formas e tamanhos que o MP pode assumir, a US EPA define uma classificação de tamanho pelo diâmetro aerodinâmico, que corresponde ao diâmetro de uma esfera de densidade unitária (USEPA, 2008).

O MP é classificado de acordo com seu tamanho aerodinâmico para avaliações de qualidade do ar. Existem três tamanhos principais:  $\text{MP}_{10}$ ,  $\text{MP}_{2,5}$ , e  $\text{MP}_{0,1}$  que correspondem as partículas que possuem tamanho menor ou igual que 10  $\mu\text{m}$ , 2,5  $\mu\text{m}$ , e 0,1  $\mu\text{m}$  respectivamente. É importante notar que, o  $\text{MP}_{2,5}$  está contido no  $\text{MP}_{10}$  assim como, o  $\text{MP}_{0,1}$  está contido no  $\text{MP}_{2,5}$ . Na FIGURA 1 é possível observar uma comparação de tamanho entre um fio de cabelo, um grão de areia fina,  $\text{MP}_{10}$  e o  $\text{MP}_{2,5}$ .

Alguns estudos trabalham com a fração grossa, que compreende as partículas de tamanho aerodinâmico entre 10 e 2,5  $\mu\text{m}$ , e partículas totais em suspensão que compreende todas as partículas de tamanho menor que 100  $\mu\text{m}$ .

FIGURA 1 - COMPARAÇÃO DE TAMANHO ENTRE FIO DE CABELO, AREIA FINA,  $\text{MP}_{10}$  E  $\text{MP}_{2,5}$

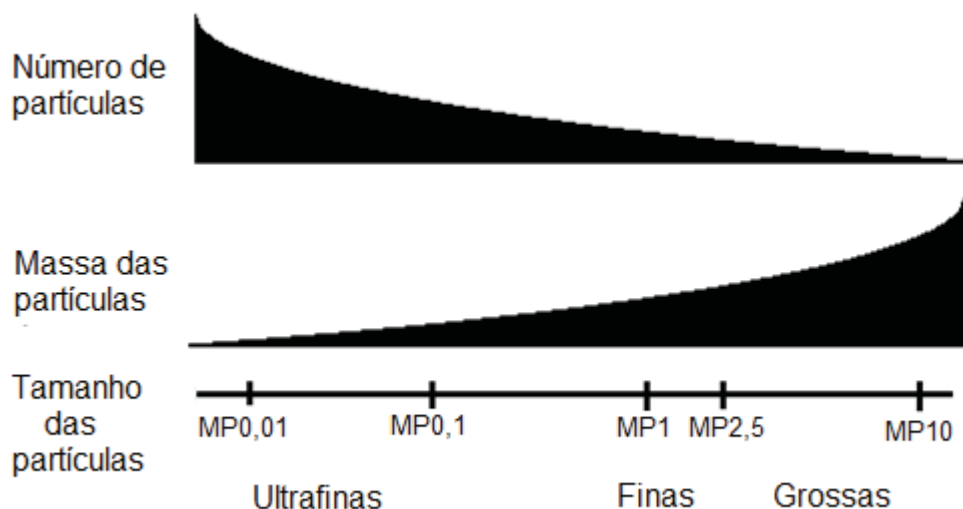


FONTE: Adaptado (USEPA, 2013).

É de importância o conhecimento da relação da distribuição de tamanho de partículas no MP tanto para avaliações de condição da poluição e fontes de emissão, quanto para entender os efeitos na saúde. A massa do MP e dos elementos diminui com o tamanho das partículas, ou seja, a fração grossa possui uma massa maior que a fração fina, e a fração nano apresenta a massa mais leve para mesmas condições de amostragem. Porém, a quantidade total de partículas e a área superficial dessas em uma amostra de aerossol, aumenta inversamente com o tamanho da partícula. Portanto as frações fina e nano contribuem para quase a maior parte de número de partículas (NIU et al., 2010; ANDERSON, THUNDIYIL e

STOLBACH, 2012). A FIGURA 2 representa a distribuição de massa e quantidade de partículas de acordo com o tamanho.

FIGURA 2 - DISTRIBUIÇÃO DO NÚMERO E MASSA DAS PARTÍCULAS DO MATERIAL PARTICULADO DE ACORDO COM SEU TAMANHO



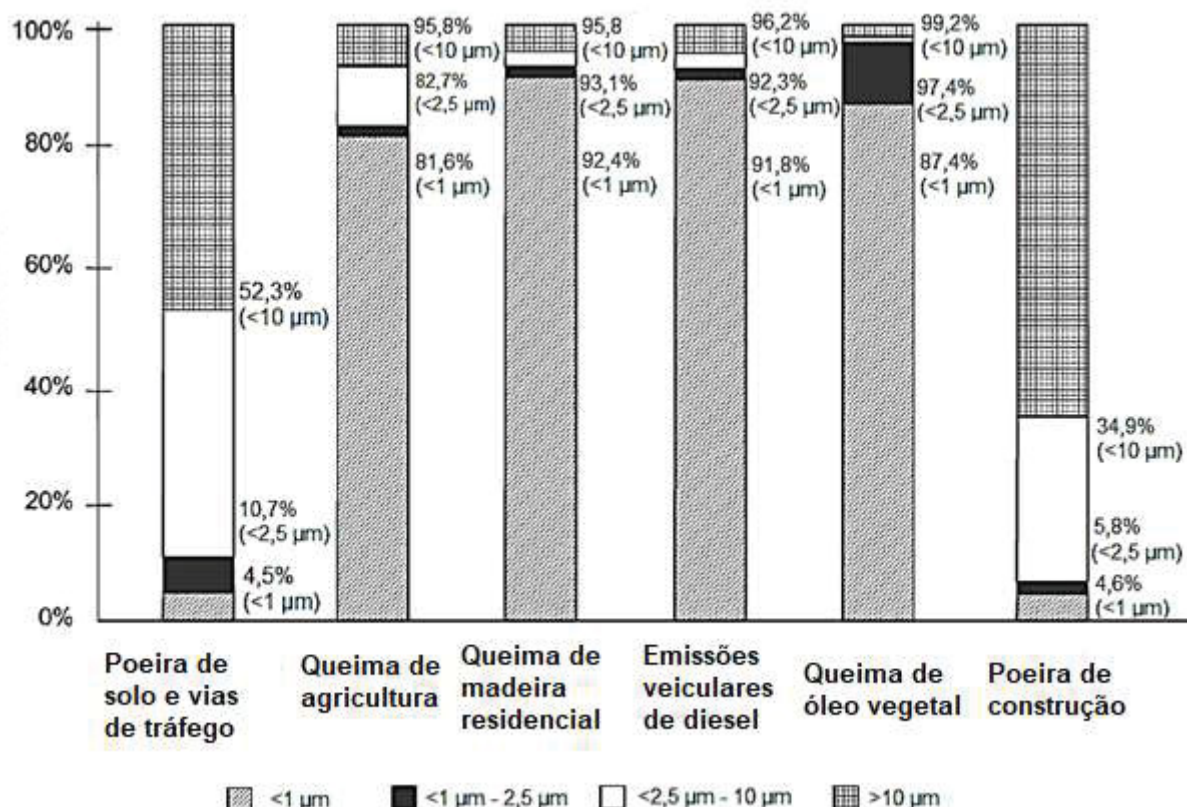
FONTE: Adaptado (ANDERSON, THUNDIYIL e STOLBACH, 2012).

Devido a menor massa, as partículas mais finas podem ser carregadas por distâncias e períodos de tempo mais longos do que as partículas maiores (grossas), e por isso, a toxicidade dessas partículas é uma preocupação para a questão da saúde. Dessa forma, a agência americana de proteção ambiental gerou um gráfico da porcentagem de cada fração do MP gerado por diferentes fontes emissoras (FIGURA 3).

É observado na Figura 3 a existência da relação entre o tamanho das partículas geradas com a fonte. Nos processos de combustão predominam as partículas de tamanho entre 1 e 2,5  $\mu\text{m}$ , enquanto nos processos mais físicos (ressuspensão do solo e de rua) as partículas geradas apresentam tamanhos predominantes acima de 2,5  $\mu\text{m}$ .

A identificação das fontes do MP é aplicada em estudos de qualidade do ar, de forma que as atividades geradoras da poluição atmosférica possam ser detectadas e tais emissões gerenciadas com o objetivo de reduzir ou eliminá-las (WHO, 2010).

FIGURA 3 - DISTRIBUIÇÃO DE TAMANHO DO MP DE ACORDO COM A FONTE EMISSORA



FONTE: Adaptado (USEPA, 2008).

A investigação das fontes faz uso de diversas técnicas para identificar as possíveis gerações de aerossóis. De um modo geral, essas técnicas trabalham com as concentrações dos elementos encontrados no aerossol analisado, para encontrar as possíveis fontes, ou, a região de interesse é analisada para a produção do seu perfil de distribuição de aerossóis, de acordo com as fontes existentes na região. Dependendo das características físicas, meteorológicas, econômicas e sociais da região de interesse, podem ser encontradas diferentes combinações de poluentes atmosféricos.

As fontes de poluição atmosférica podem ser divididas em dois tipos de fontes espaciais: fontes móveis e estacionárias. As fontes estacionárias incluem fábricas e plantas geradoras de energia elétrica (fontes geradoras de grande porte) mas também podem ser admitidos restaurantes com fornos, casas que possuem aquecimento com queima de biomassa, etc. As fontes móveis correspondem aos automóveis, aviões, cortadores de grama, etc. (USEPA, 2011).

Além disso, existem as fontes permanentes e as fontes pontuais. Os carros são um exemplo de fonte permanente, pois, apesar de haver variação no fluxo de carros no período de um dia, no geral, pode-se dizer que na média existem emissões durante quase todo o período. Já a ressuspensão de solo ou a queimada de agricultura acontece em determinados períodos, sendo dependente de condições como velocidade do vento e época de colheita.

Alguns grupos de elementos são associados com algumas fontes comuns. A TABELA 1 apresenta um resumo de algumas fontes e os elementos mais comuns encontrados.

TABELA 1 - RESUMO DOS PRINCIPAIS ELEMENTOS EMITIDOS POR FONTES DIVERSAS

Fonte	Elementos Principais	Elementos Variáveis	Contribuição da fonte para o MP (%)
Veicular	Carbono negro, Fe, Br, NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , Cr, Mn, S Ba, Zn, Cu, Pb		Entre 10 e 34
Mineral / Crustal	Al, Si, Ca, Fe, K, Ti	Mg, Sr	Entre 20 e 27
Oceanos / Sal marinho	Na, Cl, Mg	Br, K, SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , Sr	
Combustão de óleo	V, Ni, SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Pb, Cu	Entre 18 e 40
Indústria	Mn, Zn, Pb	Na	5
Aerossóis secundários	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>		

FONTE:(ANDRADE, ORSINI e MAENHAUT, 1993); (ANDRADE, ORSINI e MAENHAUT, 1994); (CASTANHO e ARTAXO, 2001); (CCOYLLO e ANDRADE, 2002).

### 2.1.2 Efeitos na saúde humana

A exposição crônica ao MP resulta em uma redução significativa na expectativa de vida causada por problemas respiratórios, mudanças nos ritmos cardíacos e ataques cardíacos (DAVIDSON, PHALEN e SOLOMON, 2005).

Há estudos epidemiológicos que investigaram os efeitos do material particulado. Esses estudos, no geral, relacionam dados de monitoramento da poluição atmosférica e dados de admissões hospitalares e/ou efeitos diretos em voluntários. A TABELA 2 apresenta o resultado de alguns estudos de poluição atmosférica e sua relação com efeitos adversos à saúde.



TABELA 2 - RESUMO DOS EFEITOS ADVERSOS RELACIONADOS À POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA

Autor	Poluente	Efeito adverso
(CANOVA et al., 2012)	MP <sub>10</sub>	35% chance de internações por agravamento em pessoas asmáticas e com doenças pulmonares obstrutivas crônicas.
(WU et al., 2012)	Metais no MP <sub>2,5</sub>	Aumento da taxa cardíaca e taxa cardiovascular por Cd, Sr, Mn, Ni, Ca, Cr e MP fino.
(MAGARI et al., 2002)	Metais no MP <sub>2,5</sub>	Aumento da taxa cardíaca com Pb, V, Ni, Cu, Mn.
(LANGRISH et al., 2012)	MP <sub>2,5</sub>	Redução na exposição reduz incidentes cardiovasculares em pessoas com doença coronariana.
(CAO et al., 2012)	MP <sub>2,5</sub>	Associação com mortalidade cardiovascular e por problemas respiratórios.
(OSTRO et al., 2009)	MP <sub>2,5</sub>	Reportou um aumento de 4% nas admissões pediátricas por problemas respiratórios a cada 14 µg m <sup>-3</sup> de aumento do MP <sub>2,5</sub> .
(KARR et al., 2007)	MP <sub>2,5</sub>	Aumento de admissões de crianças com bronquite associado ao aumento de MP <sub>2,5</sub> .
(BROOK et al., 2010)	MP <sub>2,5</sub>	Comprovou associação de aumento de morbidade e mortalidade com aumento do MP <sub>2,5</sub> , tanto para exposição de curto como de longo prazo.
(POPE et al., 1993)	MP <sub>2,5</sub>	Aumento na massa de MP <sub>2,5</sub> é associada com aumento de mortes por problemas respiratórios e pulmonares (câncer de pulmão)
(ZANOBETTI et al., 2009)	MP <sub>2,5</sub>	Aumento de admissões por pneumonia com aumento do MP <sub>2,5</sub> .
(HOEK et al., 2002)	Carbono negro	Aumento na taxa de mortes associadas com aumento da concentração de carbono negro atmosférico.
(CLANCY et al., 2002)	Carbono negro	Diminuição na concentração de carbono negro associado com diminuição de mortes por Câncer do pulmão, e doenças cardiopulmonares.
(ANDERSON, THUNDIYIL e STOLBACH, 2012)	MP <sub>2,5</sub>	Contribui para eventos de doenças cerebrais em pessoas com vulnerabilidade.
(NASCIMENTO et al., 2012)	MP <sub>2,5</sub>	Aumento de 12% de risco de hospitalização com diagnóstico de Acidente Vascular Cerebral.

FONTE: A autora (2015).

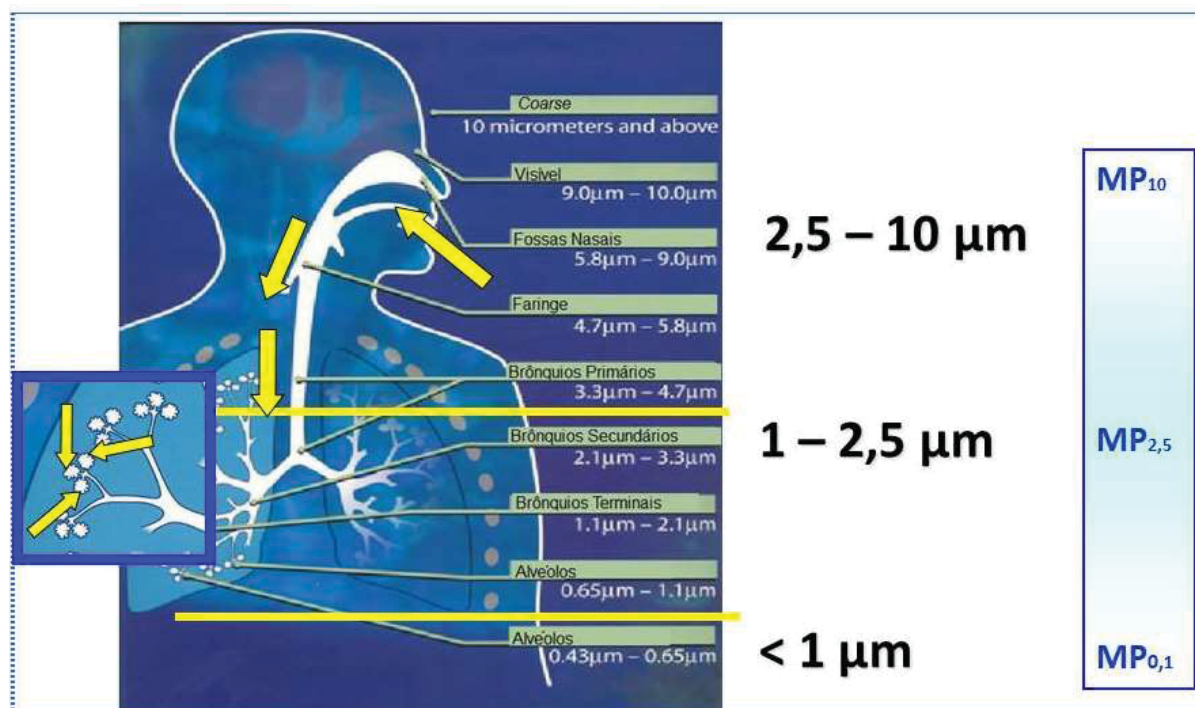
### 2.1.3 Deposição no sistema respiratório

O sistema respiratório possibilita que o ar inalado seja submetido a trocas gasosas em 300 milhões de alvéolos, presentes nas partes mais distais do pulmão (KLEIN et al., 2011).



A primeira parte do sistema respiratório, que é formado por nariz, cavidade nasal, boca, faringe e laringe, é chamado de parte superior do trato respiratório. A próxima parte é conhecida como passagem das vias aéreas inferiores, e se inicia na traquéia, depois passa pelos brônquios primários, que se conectam aos bronquíolos e termina nos sacos alveolares e alvéolos. As trocas gasosas de fato acontecem nessa última porção. A FIGURA 4 é uma representação do sistema respiratório.

FIGURA 4 - DESCRIÇÃO DO SISTEMA RESPIRATÓRIO E A DEPOSIÇÃO DAS PARTÍCULAS NO PULMÃO



FONTE: Adaptado (CCOHS, 2001)

O MP é depositado dentro do sistema respiratório, e o tamanho aerodinâmico da partícula influencia seu local de deposição (TANNER, MA e YU, 2008). Partículas de diâmetro menor que 100 µm podem ser inaladas através do nariz (SHI et al., 2011), tais partículas, porém, são filtradas (CCOHS, 2001), e somente o MP com diâmetro menor que 10 µm pode atingir o trato inferior do sistema respiratório (TANNER, MA e YU, 2008). Tais partículas, por serem pequenas o suficiente para serem inaladas, podem ficar alojadas na traquéia e nos brônquios. No entanto, as partículas de tamanho entre 2,5-10 µm (grossas), após um tempo de residência são removidas do sistema respiratório por mecanismos mucociliares e são engolidas até atingir o trato gastrointestinal (PULS, LIMBECK e

HANN, 2012). Somente o MP com um tamanho menor do que 2,5  $\mu\text{m}$  (MP fino) penetra na região de trocas gasosas do pulmão. A grande variedade de compostos do MP solúveis no fluido pulmonar pode atravessar a região de trocas gasosa e viajar no sistema circulatório, chegando a outros órgãos, causando efeitos sistêmicos em outros órgãos do corpo humano e em fetos através da placenta, além do impacto induzido no próprio sistema respiratório. Por isso, existe uma considerável atenção, atualmente, para a massa e concentração elementar dessas partículas.

A exposição crônica a essas partículas resulta em uma redução significativa na expectativa de vida, causada por problemas respiratórios, mudanças na frequência cardíaca e ataques cardíacos (DAVIDSON, PHALEN e SOLOMON, 2005). Por exemplo, a WHO indica que existe um aumento de 6% no risco relativo de mortalidade com o acréscimo de 10  $\mu\text{g m}^{-3}$  na concentração média diária anual do  $\text{MP}_{2,5}$  acima de 10  $\mu\text{g m}^{-3}$  (WHO, 2015). Brook et al. (2010) relataram em um trabalho de revisão de literatura os efeitos associados entre o material particulado e eventos cardiovasculares como: disfunção endotelial e vasoconstrição, aumento da pressão arterial, alterações pró-trombóticas e coagulantes, respostas inflamatórias sistêmicas e ao estresse oxidativo, desequilíbrio autonômico e arritmias e progressão da aterosclerose levando a eventos de morbidade e mortalidade nas pessoas expostas ao MP. De forma similar, um estudo observou a relação entre a exposição ao  $\text{MP}_{2,5}$  e alguns efeitos respiratórios (doença pulmonar obstrutiva crônica, câncer de pulmão, infecção respiratória inferior aguda) (BURNETT et al., 2014).

#### 2.1.4 Diretrizes de qualidade do ar

Diretrizes de qualidade do ar são desenvolvidas de modo a recomendar valores de concentração de poluentes atmosféricos, as quais podem afetar adversamente à saúde humana. No ano passado (2018), foi aprovada a revisão da resolução que estabelece os padrões de qualidade do ar CONAMA 003/1990 para a resolução CONAMA 491/2018, onde inclui-se na legislação o  $\text{MP}_{2,5}$  (CONAMA, 2018). Os limites para os poluentes de interesse estão resumidos na TABELA 3.

Apesar dessa nova importante revisão feita adicionando-se nos padrões de qualidade do ar o MP<sub>2,5</sub> no Brasil, ainda não existem padrões de qualidade do ar relacionando tanto o conteúdo orgânico quanto inorgânico do MP<sub>2,5</sub>. Esse fato demonstra a importância da realização deste estudo, devido a necessidade de se determinar os componentes do material particulado que realmente estejam causando efeitos deletérios na saúde da população.

A Organização Mundial da Saúde (*World Health Organization – WHO*) estudou alguns poluentes importantes e determinou diretrizes. O limite anual para o MP<sub>2,5</sub> foi determinado para os menores valores em que foi encontrado risco de mortalidade por câncer pulmonar ou cardiopulmonar. Enquanto o limite diário foi recomendado no sentido de proteção contra picos de poluição que conduziram a um aumento substancial de morbidade ou mortalidade.

TABELA 3 - CONCENTRAÇÕES LIMITES PARA MP<sub>2,5</sub> E Pb.

	Concentração média anual	Concentração média diária
<b>MP<sub>2,5</sub> (µg m<sup>-3</sup>) (WHO)</b>	10	25
<b>MP<sub>2,5</sub> (µg m<sup>-3</sup>) (CONAMA)</b>	20	60
<b>Pb (ng m<sup>-3</sup>) (EC)</b>	500	

FONTE: (WHO, 2010), (CONAMA, 2018), (EC, 2016).

Da mesma forma, a Comissão da União Européia (*European Commission - EC*) desenvolveu uma legislação que estabelece limites para o Chumbo (Pb) encontrados como partículas no ar. Esses limites são baseados em observações de impactos à saúde associados a esses elementos. Neste caso, somente a concentração para longas exposições (meses a anos) foi determinado.

Os valores observados na TABELA 3 evidenciam a necessidade de mais estudos relacionando os efeitos específicos de elementos do material particulado na saúde humana de forma a possibilitar o desenvolvimento de novas regulamentações e legislações controlando a concentração atmosférica dessas partículas.

### 2.1.5 Testes *in vitro*

É possível encontrar uma variedade de estudos epidemiológicos na literatura recente que trata dos efeitos do MP, mas geralmente esses estudos se dedicam exclusivamente a relação entre o material particulado e dados clínicos (POPE, EZZATI e DOCKERY, 2009; CANOVA et al., 2012; CAO et al., 2012; LANGRISH et al., 2012; NASCIMENTO et al., 2012; WU et al., 2012).

Uma análise crítica destes artigos indicaram que a fração elementar solúvel dos aerossóis, têm impactos mais representativos na saúde do que a concentração total mássica de exposição (NIU et al., 2010). Nesse sentido, estudos *in-vivo* e *in-vitro* podem prover experimentos mais específicos que devem subsidiar conclusões e por consequência indicar novos parâmetros para a avaliação de risco a saúde do ser humano. Inicialmente, estes estudos foram desenvolvidos com intuito de melhorar o desempenho de fármacos, otimizando a dosagem utilizada para diferentes rotas de entrada no corpo humano, assim como para avaliar a compatibilidade de materiais desenvolvidos como implantes corpóreos (MARQUES, LOEBENBERG e ALMUKAINZI, 2011). Atualmente estudos utilizando fluidos biológicos artificiais vem sendo conduzidos para outras diversas aplicações como informação nutricional de alimentos e suplementos alimentares, solubilidade de metais em aplicações odontológicas, avaliações toxicológicas de substâncias do meio ambiente ocupacional ou não, etc. (MARQUES, LOEBENBERG e ALMUKAINZI, 2011).

Mesmo não representando fidedignamente as condições fisiológicas humanas, os estudos *in vitro* possuem uma importante aplicação de prever resultados dos testes *in vivo*. Dessa forma, com a aplicação do estudo *in vitro* inicialmente é possível verificar as melhores e piores condições para a variável analisada, elaborar os experimentos mais completos e complexos, e somente então utilizar tais resultados e aprendizagem em estudos *in-vivo*, em menor quantidade e prejuízo. Essa estratégia recente esta diretamente associada às questões éticas da utilização de animais devido a crueldade, e a não tão recente reformulação da estratégia dos 3R “*Replacement, Reduction and Refinement*”, do inglês Substituição, Redução e Refinamento escrita por RUSSEL e BURCH, em 1959 (MARQUES, LOEBENBERG e ALMUKAINZI, 2011). Nesse sentido, vem-se

buscando reduzir o uso de animais em experimentos por métodos alternativos, e melhorar as condições quando os experimentos *in-vivo* são necessários. Com isso, o uso de testes *in vitro* é uma alternativa mais simples, barata e rápida para investigação de processos que ocorrem no corpo humano. Fluidos corpóreos artificiais de diversas partes do corpo humano estão estabelecidos na literatura: plasma e fluido corpóreo artificial para as rotas de transporte venoso; fluidos para todo o sistema gastrointestinal; desde saliva artificial a fluido do cólon para a rota de oral de fármacos e substâncias tóxicas; fluidos pulmonares artificiais para as rotas de inalação; suor e lágrima artificiais; fluido vaginal e sêmen artificial (MARQUES, LOEBENBERG e ALMUKAINZI, 2011).

Um ramo dos estudos *in vitro* é a avaliação da bioacessibilidade e biodisponibilidade dos poluentes. A bioacessibilidade é definida como a maior quantidade de determinada substância que é solúvel em um fluido biológico. Dessa forma, essa substância tem o potencial de ser transportada pelo corpo humano, gerando efeitos sistemáticos negativos (HAMEL, 1998). Enquanto a biodisponibilidade é a quantidade de metais que são transportados através das membranas celulares (HAMEL, 1998).

Quando se trata de substâncias tóxicas, as três principais rotas de contaminação no corpo humano são contato dérmico, ingestão e inalação. Nesse sentido, estudos de bioacessibilidade de substâncias tóxicas foram desenvolvidos em fluidos biológicos. As duas últimas rotas podem desenvolver efeitos maiores e mais rápidos na saúde em relação a primeira.

Estudos de bioacessibilidade de metais em fluidos gastrointestinais artificiais são representativos da via de entrada no corpo humano por ingestão. Tais estudos foram desenvolvidos para as matrizes solo (HAMEL, 1998; OOMEN et al., 2003; BROADWAY et al., 2010) e poeira de rua (HU et al., 2011; OKORIE, ENTWISTLE e DEAN, 2012), consideradas as principais especialmente para crianças, e em materiais específicos, como mercúrio presente em resíduos de mineração (GRAY et al., 2010), materiais de cobalto (STOPFORD et al., 2003), fuligem de usinas de energia elétrica (TWINING et al., 2005), e poeira depositada em ambiente residencial (TURNER, 2011). Também foi estudada a bioacessibilidade de metais presentes no material particulado atmosférico em fluidos gastrointestinais artificiais (FALTA et al., 2008; HU et al., 2012; PULS, LIMBECK e HANN, 2012).

A rota de inalação possibilita efeitos mais severos e mais rápidos para substâncias presentes no ar, pois pela região de trocas gasosas dos alvéolos, essas substâncias poderiam rapidamente ser transportadas pelo sistema circulatório atingindo outros órgãos e regiões do corpo humano.

A inalação é um caminho crítico em relação à avaliação de riscos de elementos metálicos, sendo que a taxa de absorção de metais nos pulmões é aproximadamente de 3 a 5 vezes maior que no duodeno (COLLIER et al., 1992). Para proteger os pulmões, a maioria das partículas são consumidas por macrófagos alveolares, produzindo um vacúolo em um processo conhecido como fagocitose. Lisossomas se fundem com o vacúolo e liberam enzimas proteolíticas, radicais de oxigênio, quelantes e precipitadores que reagem com as partículas (KREYLING, 1992). Em seguida, o material dissolvido é submetido à translocação da célula para o sangue através da barreira ar-sangue (COLLIER et al., 1992).

O tamanho de partícula de aerossol é um dos fatores que influenciam a solubilidade do MP inorgânico no fluido pulmonar. Embora as partículas grossas (2,5 – 10  $\mu\text{m}$ ) possam ser inaladas pelo nariz e depositadas na região extra-torácica respiratória, elas são removidas por mecanismos mecânicos de limpeza (espirros, tosse ou deglutição) e, conseqüentemente, somente partículas finas (MP<sub>2,5</sub>) alcançam o brônquio e regiões alveolares (GUNEY et al., 2017).

Outro fator crítico é o tempo de permanência das partículas inaladas finas (MP<sub>2,5</sub>), pois geralmente a maioria delas (85%) é removida em até 24 horas da região dos brônquios do sistema respiratório (HOFMANN e ASGHARIAN, 2003) principalmente por mecanismos mucociliares de limpeza (HOFMANN, 2011) e, em menor escala, por translocação (transporte) e/ou absorção no sangue (GUNEY et al., 2017).

Além disso, na região alveolar os processos de limpeza mais significantes são por fagocitose realizada pelos macrófagos alveolares (gerando condições mais ácidas devido aos processos de inflamação), e a absorção no sangue por dissolução (condições neutras do ambiente pulmonar). Portanto, a variação das condições do ambiente pulmonar devido ao processo de limpeza que esteja ocorrendo majoritariamente (composição do fluido pulmonar) é outro fator crítico que influencia a solubilidade do aerossol.

Para o propósito de realização dos ensaios *in vitro*, diferentes composições de fluido pulmonar artificial vem sendo utilizados para estudar a bioacessibilidade no corpo humano na exposição a variados tipos de materiais, como solo, resíduos de mineração, e aerossóis, pela inalação como via de exposição, como listado na TABELA 4 abaixo.



TABELA 4 - TRABALHOS DA LITERATURA QUE INVESTIGARAM A BIOACESSIBILIDADE DE DIFERENTES TIPOS DE AMOSTRAS EM FLUIDO PULMONAR ARTIFICIAL DE DIFERENTES COMPOSIÇÕES

(continua)

<b>Fluido Pulmonar artificial</b>	<b>Amostra</b>	<b>Local</b>	<b>Tempos incubação</b>	<b>Elementos</b>	<b>Referência</b>
ALF e FG	Materiais de referência de poeira de rua (90 µm) e resíduo de catalisadores (74 µm)		Diversos até 30 dias	Pt, Pd e Rh	(COLOMBO, MONHEMIUS e PLANT, 2008)
ALF e FG	Poeira de rua (63 a 125 µm)		1, 5, 24, 48, 168 e 672 horas	Cr e Pb	(POTGIETER-VERMAAK et al., 2012)
ALF e FG	Solo contaminado (20 µm)		2, 6 24 horas, 3, 7 e 14 dias	As, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb e Zn	(GUNEY et al., 2017)
FG modificado e água deionizada	Resíduos de mineração (150 µm)		24 horas	Hg	(GRAY et al., 2010)
ALF	Resíduo de mineração (0,05 a 11 µm)		7 a 140 horas	Pb	(BEESTON et al., 2010)
ALF, FG, Fluidos alveolar artificiais	13 diferentes compostos em tamanhos de 0,69 µm a 4 mm		2, 5, 24 e 72 horas	Co	(STOPFORD et al., 2003)
ALF e FG	Materiais em pó (40 µm) e maciços		0,5, 1, 4, 8 e 24 horas	Cu	(MIDANDER, WALLINDER e LEYGRAF, 2007)
ALF e FG	Partículas de aço inoxidável de 3,6 µm, 5,5 µm, 12,6 µm, 31 µm e 44 µm		1, 4, 8 e 24 horas	Fe, Cr e Ni	(MIDANDER et al., 2007)

TABELA 4 - TRABALHOS DA LITERATURA QUE INVESTIGARAM A BIOACESSIBILIDADE DE DIFERENTES TIPOS DE AMOSTRAS EM FLUIDO PULMONAR ARTIFICIAL DE DIFERENTES COMPOSIÇÕES

Fluido Pulmonar artificial	Amostra	Local	Tempos incubação	Elementos	Referência	(conclusão)
ALF e FG	Partículas de ligas metálicas com Fe e Cr		168 horas	Fe e Cr	(HEDBERG et al., 2010)	
FG modificado e água	Materiais de referência de poeira de residências (100 µm), fuligem de combustão de carvão (10 µm), partículas de exaustão de veículos, MP (30 µm)		15, 30, 60, 120, 240, 300, 1440, 2880, 4320 horas	Ba, Cd, Ce, Co, Cu, La, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sb, Zn	(JULIEN et al., 2011)	
Acetato de amônia	MP (1000, 560, 320, 180, 97 e 57 nm)	Otawa, Canada	2 horas	V, Mn, Fe, Cu, Zn, Mo, Sn, Pb	(NIU et al., 2010)	
ALF e FG	MP <sub>10</sub> , MP <sub>2,5</sub> , MP <sub>1</sub> , e material de referência de resíduo de catalisadores (74 µm)	Frankfurt, Alemanha	24 horas e 30 dias	Pt, Pd e Rh	(ZEREINI, WISEMAN e PUTTMANN, 2012)	
Água, NaCl, Acetato de amônia, citrato de amônia, ALG e FG	MP <sub>10</sub>		1 hora	As, Ba, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb e Zn	(MUKHTAR, MOHR e LIMBECK, 2015)	
ALF e FG	MP <sub>2,5</sub> , MP <sub>2,5-1</sub> , MP <sub>1-0,4</sub> , MP <sub>0,5</sub>	Minas na Bolívia	24 horas	Ag, As, Cd, Cu, Sb, SN, Pb e Zn	(GOIX et al., 2016)	
ALF e FG	MP <sub>10</sub> , MP <sub>2,5</sub> , MP <sub>1</sub>	Frankfurt, Alemanha	24 horas e 30 dias	Ti, V, Cr, Mn, Co, Ni, Ce, Pb, Cu, As, Sb	(WISEMAN e ZEREINI, 2014)	
ALF e FG	MP <sub>2,5</sub>	Nanjing, China	1 e 15 dias	Pb	(LI et al., 2016)	
FG	MP <sub>2,5</sub>	Shanghai, Nanjing, Guangzhou; China	24 horas	Pb, Mn	(LUO et al., 2019)	

Fonte: A autora.

De forma a mimetizar a composição real do fluido pulmonar humano nos processos de limpeza de partículas por absorção no sangue, geralmente o Fluido Artificial Lysosomal (ALF – *Artificial Lysosomal Fluid*) é usado para a fagocitose, e o Fluido Gamble (FG - *Gamble's Solution*) para dissolução (MIDANDER, WALLINDER e LEYGRAF, 2007; COLOMBO, MONHEMIUS e PLANT, 2008; MARQUES, LOEBENBERG e ALMUKAINZI, 2011). A composição química do ALF e FG esta apresentada na TABELA 5. O ALF simula as condições mais ácidas celulares (pH 4,5) enquanto o FG representa as condições de neutralidade do fluido intersticial presente no pulmão (pH 7,4) (HU et al., 2012).

TABELA 5 - COMPOSIÇÃO (g L<sup>-1</sup>) DOS FLUIDOS ARTIFICIAIS ALF E FG

Composição química (g L <sup>-1</sup> )		ALF	FG
Cloreto de Magnésio	MgCl <sub>2</sub>	0,050	0,095
Cloreto de Sódio	NaCl	3,21	6,019
Cloreto de Potássio	KCl	–	0,298
Fosfato de sódio dihidratado	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,071	0,126
Sulfato de sódio	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,039	0,063
Cloreto de cálcio dihidratado	CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,128	0,368
Acetato de sódio	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> Na	–	0,574
Bicarbonato de sódio	NaHCO <sub>3</sub>	–	2,604
Citrato de sódio dihidratado	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> Na <sub>3</sub> O <sub>7</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,077	0,097
Hidróxido de sódio	NaOH	6,00	–
Ácido cítrico	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub>	20,8	–
Glicina	H <sub>2</sub> NCH <sub>2</sub> COOH	0,059	–
Tartarato de sódio dihidratado	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O <sub>6</sub> Na <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0,090	–
Lactato de sódio	C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> NaO <sub>3</sub>	0,085	–
Piruvato de sódio	C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> O <sub>3</sub> Na	0,086	–
pH		4,5	7,4

Fonte: (COLOMBO, MONHEMIUS e PLANT, 2008).

Alguns estudos observaram que a solubilidade dos metais em ALF é substancialmente mais elevada (de 2 a 1000 vezes dependendo do elemento químico e do material) em relação ao encontrado para FG, sendo um dos motivos o baixo pH da solução ALF (MIDANDER et al., 2007; COLOMBO, MONHEMIUS e PLANT, 2008; POTGIETER-VERMAAK et al., 2012; WISEMAN e ZEREINI, 2014).

As TABELA 6 a TABELA 9 apresentam valores médios de bioacessibilidade de Cu, Pb, Cr e Mn contidos em material particulado nos fluidos pulmonares simulados ALF e FG, de estudos encontrados na literatura. Os valores de

bioacessibilidade estão ordenados do menor para o maior pelo tamanho da partícula amostrada nos estudos, e quando a bioacessibilidade do elemento químico foi avaliada na mesma amostra em relação ao ALF e FG, foi listada também a razão entre os dois resultados encontrados. A bioacessibilidade média encontrada em amostras de MP<sub>2,5</sub> foi similar entre Cu, Mn e Cr, sendo respectivamente 2,5, 2,7 e 3,0 vezes maior no ALF em relação ao FG. Enquanto isso, para o chumbo a bioacessibilidade média foi 8,3 vezes maior no ALF em relação ao FG.

TABELA 6 - BIOACESSIBILIDADE MÉDIA (BIO%) DE COBRE (CONTIDO EM MP) NOS FLUIDOS PULMONARES SIMULADOS ALF E FG NA LITERATURA

Tam (µm)	Matriz/origem	Bio% ALF FG		Razão ALF/FG	Referência
0,5	Mineiração e metalurgia	65			(GOIX et al., 2016)
<1	Urbano	75	22	3,4	(COUFALÍK et al., 2016)
	Tráfego	87	48	1,8	(WISEMAN e ZEREINI, 2014)
<2,5	Tráfego	80	31	2,6	(WISEMAN e ZEREINI, 2014)
	Urbano	79	39	2,0	(HUANG et al., 2016a)
	Urbano	83	30	2,8	
	Industrial		68		
	Metalúrgicas		76		
	Urbano		79		(MBENGUE, ALLEMAN e FLAMENT, 2015)
<3,3	Interno inverno	27	24	1,1	(TANG et al., 2018)
	Interno primavera	26	27	1,0	
	Externo primavera	23	24	1,0	
	Externo primavera	25	24	1,1	
<5	Cinzas de carvão		33		(TWINING et al., 2005)
	NIST 1648a		41		(JULIEN et al., 2011)
<10	BCR38 (cinzas de carvão)		36		(JULIEN et al., 2011)
	Urbano	26			(MUKHTAR, MOHR e LIMBECK, 2015)
	Tráfego	83	40	2,1	(WISEMAN e ZEREINI, 2014)
	Urbano		18		(DA SILVA et al., 2015)
TSP	Urbano e industrial	65	37	1,8	(HUANG et al., 2016b)
	Veicular		38		
	NIST 2584 (aspirador de pó)		41		(JULIEN et al., 2011)
<b>Média MP<sub>2,5</sub> ALF/Gamble</b>		<b>81</b>	<b>33</b>	<b>2,5</b>	
<b>Média para todos os tamanhos</b>		<b>57</b>	<b>39</b>	<b>1,9</b>	

TABELA 7 - BIOACESSIBILIDADE MÉDIA (BIO%) DE CHUMBO (CONTIDO EM MP) NOS FLUIDOS PULMONARES SIMULADOS ALF E FG NA LITERATURA

Tam ( $\mu$ m)	Matriz/origem	Bio%		Razão ALF/FG	Referência
		ALF	FG		
0,5	Industrial	55			(GOIX et al., 2016)
<1	Urbano	84	1	84	(COUFALÍK et al., 2016)
	Urbano	78	5	16	(WISEMAN e ZEREINI, 2014)
<2,5	Urbano	84	4	21	(WISEMAN e ZEREINI, 2014)
	Industrial	66	10	6,6	(LI et al., 2016)
	Industrial	78	11	7,1	
	Industrial	61	20	3,1	
	Urbano	45	7	6,4	(HUANG et al., 2016a)
	Urbano	43	8	5,4	
	Urbano e industrial		1		(LUO et al., 2019)
	Urbano e industrial		2		
	Urbano e industrial		2		
	Industrial		18		
	Industrial		58		(MBENGUE, ALLEMAN e FLAMENT, 2015)
	Urbano		39		
<3,3	Interno inverno	50	0,9	56	(TANG et al., 2018)
	Interno primavera	60	4,3	14	
	Externo primavera	42	0,8	53	
	Externo primavera	58	2	29	
<5	Cinzas carvão		9		(TWINING et al., 2005)
	NIST 1648a		14		(JULIEN et al., 2011)
<10	BCR38 (cinzas de carvão)		3,3		(JULIEN et al., 2011)
	Urbano		11		(DA SILVA et al., 2015)
	Tráfego	96	26	3,7	(WISEMAN e ZEREINI, 2014)
	Urbano	61			(MUKHTAR, MOHR e LIMBECK, 2015)
63-125	Poeira de rua	46	0,3	155	(POTGIETER-VERMAAK et al., 2012)
TSP	Veicular		45		(JULIEN et al., 2011)
	Urbano e industrial	58	8	7,3	(HUANG et al., 2016b)
	NIST 2584 (aspirador de pó)		24		(JULIEN et al., 2011)
<b>Média MP<sub>2,5</sub> ALF/Gamble</b>		<b>63</b>	<b>10</b>	<b>8,3</b>	
<b>Média para todos os tamanhos</b>		<b>63</b>	<b>12</b>	<b>31</b>	

TABELA 8 - BIOACESSIBILIDADE MÉDIA (BIO%) DE MANGANÊS (CONTIDO EM MP) NOS FLUIDOS PULMONARES SIMULADOS ALF E FG NA LITERATURA

Tam ( $\mu\text{m}$ )	Matriz/origem	Bio%		Razão ALF/FG	Referência
		ALF	FG		
<1	Urbano	63	0		(COUFALÍK et al., 2016)
	Tráfego	63	8	7,9	(WISEMAN e ZEREINI, 2014)
<2,5	Urbano	39	27	1,4	(HUANG et al., 2016a)
	Urbano	30	33	0,9	
	Tráfego	52	9	5,8	(WISEMAN e ZEREINI, 2014)
	Urbano e industrial		18		(LUO et al., 2019)
	Industrial e veicular		15		
	Industrial e veicular		10		
	Industrial		16		(MBENGUE, ALLEMAN e FLAMENT, 2015)
	Metalúrgicas		40		
<3,3	Urbano		27		
	Interno inverno	45	5,7	7,9	(TANG et al., 2018)
	Interno primavera	34	19	1,8	
	Externo primavera	45	22	2,0	
	Externo primavera	36	11	3,1	
5	NIST 1648a	52			(JULIEN et al., 2011)
<10	Tráfego	57	27	2,1	(WISEMAN e ZEREINI, 2014)
	Urbano	65			(MUKHTAR, MOHR e LIMBECK, 2015)
	Urbano		33		(DA SILVA et al., 2015)
	BCR38 (cinzas de carvão)	32			Julien
	Urbano e industrial	32	20	1,6	(HUANG et al., 2016b)
TSP	NIST 2584 (aspirador de pó)	24			(JULIEN et al., 2011)
<b>Média MP<sub>2,5</sub> ALF/Gamble</b>		<b>40</b>	<b>23</b>	<b>2,7</b>	
<b>Média para todos os tamanhos</b>		<b>45</b>	<b>19</b>	<b>3,5</b>	

TABELA 9 - BIOACESSIBILIDADE MÉDIA (BIO%) DE CRÔMO (CONTIDO EM MP) NOS FLUIDOS PULMONARES SIMULADOS ALF E FG NA LITERATURA

Tam ( $\mu\text{m}$ )	Matriz/origem	Bio%		Razão ALF/FG	Referência
		ALF	FG		
<1	Tráfego	61	21	2,9	(WISEMAN e ZEREINI, 2014)
	Urbano	24	20	1,2	(COUFALÍK et al., 2016)
<2,5	Tráfego	31	9	3,4	(WISEMAN e ZEREINI, 2014)
	Urbano	44	14	3,1	(HUANG et al., 2016a)
	Urbano	47	19	2,5	
<5	Cinzas de carvão		0,08		(TWINING et al., 2005)
<10	Tráfego	31	21	1,5	(WISEMAN e ZEREINI, 2014)
	Urbano		2		(DA SILVA et al., 2015)
63-125	Poeira de rua	19	1,6	12	(POTGIETER-VERMAAK et al., 2012)
TSP	Urbano e industrial	44	19	2,3	(HUANG et al., 2016b)
<b>Média MP<sub>2,5</sub> ALF/Gamble</b>		<b>41</b>	<b>14</b>	<b>3,0</b>	
<b>Média para todos os tamanhos</b>		<b>38</b>	<b>13</b>	<b>3,6</b>	

Além disso, vem sendo observado em alguns estudos, que existe uma diferenciação de especiação e solubilidade dos aerossóis durante o tempo de residência na atmosfera (ZEREINI, WISEMAN e PUTTMANN, 2012). Zereini, Wiseman e Puttmann (2012) sugeriram que os elementos contidos no MP são susceptíveis de sofrer transformações químicas durante e/ou após a emissão.

Sendo o MP<sub>2,5</sub> a fração do MP que pode atingir as regiões mais inferiores do sistema respiratório, e tendo esse material sofrido potencialmente transformações químicas em relação ao que foi emitido, é de interesse tanto da comunidade médica como ambiental a determinação da solubilidade dos aerossóis brasileiros no fluido pulmonar, pois após a solubilização os metais presentes estão livres para serem transportados pelo sistema circulatório.

## 2.2 ELEMENTOS QUÍMICOS EM FOCO

O Cobre é geralmente utilizado em equipamentos elétricos, mas as principais fontes antropogênicas de contaminação do ambiente são mineração, aplicação de fungicidas e algicidas na agricultura, resíduos sólidos e lodo de



estações de tratamento de águas residuais. Além disso, o Cu é um elemento traço essencial, com doses recomendadas de 1,5 a 3,0 mg/dia para adultos, 0,7 a 2,5 mg/dia para crianças e adolescentes, e de 0,4 a 0,7 mg/dia para lactentes. Contudo, a inalação de altas doses de cobre podem levar a irritação de membranas das mucosas nasais, e eventualmente da faringe, ocasionalmente pode causar ulceração com perfuração do septo nasal (RAIS, 1992). A exposição crônica ao Cu no trato gastrointestinal causa irritação com náusea, vômito, gastrite e diarreia crônica, além desses efeitos, a anemia também tem sido relatada (RAIS, 1992). A concentração de referência de inalação aguda desenvolvida para exposição ao Cu é de  $100 \mu\text{g m}^{-3}$  (CALEPA, 2016).

As principais fontes de manganês na atmosfera incluem indústrias de fabricação de ligas metálicas, fertilizantes, cerâmicas e mineração, além de uma grande contribuição das rochas e solos. Similar ao Cu, o manganês é um elemento traço essencial, e a referência nutricional diária é de 2 a 5 mg para adultos e adolescentes. A poluição atmosférica foi listada como a primeira fonte para Mn excedente no corpo humano, resultando em efeitos primeiramente sobre o sistema nervoso (USEPA, 2017). Além disso, o sistema respiratório também pode ser afetado por tosse, bronquite, dificuldade para respirar durante atividades físicas, alguns efeitos sobre reprodução e de desenvolvimento também foram observados (USEPA, 2017). A Concentração de Referência de Inalação (RfC) para manganês é listada como  $50 \text{ ng m}^{-3}$  (IRIS, 2002).

O cromo é mais comumente produzido por processos industriais como fabricação de ligas metálicas, corantes e pigmentos, couro e preservação de madeira. Existem dois principais estados de valência: o cromo trivalente (Cr III), que ocorre naturalmente e o cromo hexavalente (Cr VI) mais comumente produzido por processos industriais. O Cr III é um nutriente essencial, com uma ingestão diária de 50 a 200  $\mu\text{g}$  por dia recomendado para adultos, e o organismo possui vários sistemas de desintoxicação para reduzir a Cr VI ao Cr III. O cromo (VI) é muito mais tóxico que o cromo (III), tanto para exposições agudas quanto crônicas, e atualmente apenas o Cr (VI) foi oficialmente classificado como carcinógeno para humanos pela via inalatória de exposição (USEPA, 2017). A Agência para Substâncias Tóxicas e Registro de Doenças criou um relatório com níveis mínimos de risco (MRLs) para Cr (VI) ( $5 \text{ ng m}^{-3}$ ) e Cr (III) ( $100 \text{ ng m}^{-3}$  para insolúvel e  $5000 \text{ ng m}^{-3}$  para solúvel).

$\text{m}^{-3}$ ) (ATSDR, 2017). Além disso, há uma concentração de referência de inalação (RfC) listada para Cr (VI) como  $0,08 \text{ ng m}^{-3}$  (IRIS, 2002).

As fontes de chumbo para o meio ambiente são as indústrias de mineração, fundição e refino, fábricas de aço e ferro e fábricas de baterias. O Pb é persistente no ambiente, e no corpo humano o chumbo se distribui pelo sangue e se acumula nos ossos (USEPA, 2017). Existem vários efeitos sistêmicos no corpo humano relacionados à exposição ao Pb, como problemas gastrointestinais, danos aos rins, anemia, variação da pressão arterial, interferência no sistema imunológico e no metabolismo da vitamina D. O sistema nervoso também é afetado pela lentidão da condução nervosa em nervos periféricos em adultos, e mesmo níveis baixos no início da vida têm sido associados a redução no desenvolvimento de aprendizagem de crianças. Além disso, a exposição à Pb em grávidas está associada a efeitos adversos sobre o feto, e a infertilidade no homem também foi observada (USEPA, 2017). O risco de unidade de inalação para exposição ao chumbo é de  $0,012 \text{ ng m}^{-3}$  (CALEPA, 1997).

## 2.3 PLANEJAMENTO FATORIAL

O planejamento fatorial é empregado na otimização e estudo das condições experimentais de um dado problema de forma matemática e estatística. Dessa forma, em um estudo experimental quando existe um número elevado de variáveis independentes, onde não há conhecimento de quais afetariam significativamente a variável dependente, se evitaria o gasto de tempo, recursos materiais e financeiros com um grande número de experimentos utilizando o planejamento fatorial ao invés de conduzir experimento de forma empírica ou univariavelmente (PEREIRA-FILHO, 2015).

A primeira etapa do planejamento fatorial é identificar quais variáveis independentes serão testadas, e quais são as condições indicadas e viáveis para cada uma com auxílio de referências bibliográficas. Duas condições experimentais são avaliadas para cada variável, o nível superior e o inferior, dessa forma para  $n$  variáveis seriam necessários  $2^n$  experimentos. Para que a quantidade de experimentos não se torne elevada, que é o contrário do objetivo do planejamento fatorial, dividi-se o planejamento em: Completo de 2 a 4 variáveis aplicando-se  $2^n$

experimentos; e Fracionário para cinco variáveis ou mais, com  $2^{n-1}$  experimentos (PEREIRA-FILHO, 2015). Com os resultados dos experimentos é possível então se avaliar o efeito de cada variável individualmente e o efeito da variação concomitante das variáveis sobre a resposta experimental (variável dependente), e dessa forma fazer uma triagem de 2 ou 3 variáveis independentes que apresentam efeitos mais significativos sobre a resposta. Para que a discrepância entre as unidades das variáveis não afete os resultados, as variáveis são normalizadas ou codificadas, sendo o nível superior normalizado para +1, e o nível inferior normalizado para -1. O efeito de cada variável independente sobre a resposta avaliada é a diferença entre os valores da resposta obtidos experimentalmente no nível superior e inferior da variável analisada. Adicionalmente, testes estatísticos podem ser aplicados sobre os resultados para que a triagem das variáveis seja feita estatisticamente com confiança.

Após a escolha das variáveis que apresentam efeitos mais significativos sobre a resposta experimental, aplica-se experimentos de refinamento para identificar as condições das variáveis que resultariam na resposta desejada, por exemplo maximização do sinal analítico, etc.

O Planejamento composto central, também conhecido como CCD (*central composite design*), é um planejamento experimental onde as variáveis são testadas em 5 condições, os níveis superior e inferior vistos anteriormente, além do nível central (normalizado para zero) e os chamados pontos axiais ou estrela (normalizados para  $-\sqrt{2}$  e  $+\sqrt{2}$ ). Além da maior variação dos níveis das variáveis um modelo de regressão é utilizado a fim de se correlacionar matematicamente as variáveis independentes e a resposta (BARROS-NETO, SCARMINIO e BRUNS, 2001). A partir do modelo gerado pela regressão são construídos gráficos de contorno (2D) e de superfície (3D) do comportamento da resposta com a variação das variáveis analisadas. Dessa forma é possível identificar a região com a resposta desejada e quais são as condições das variáveis para essa região definida.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

A fração bioacessível de Cu, Cr, Pb e Mn contidos no MP<sub>2,5</sub> foi obtida como: a concentração mássica de cada elemento solubilizada no fluido pulmonar ALF após o ensaio *in vitro*, em relação a concentração mássica total de cada elemento obtida por meio de amostragem nas cidades de Curitiba-PR e Manaus-AM.

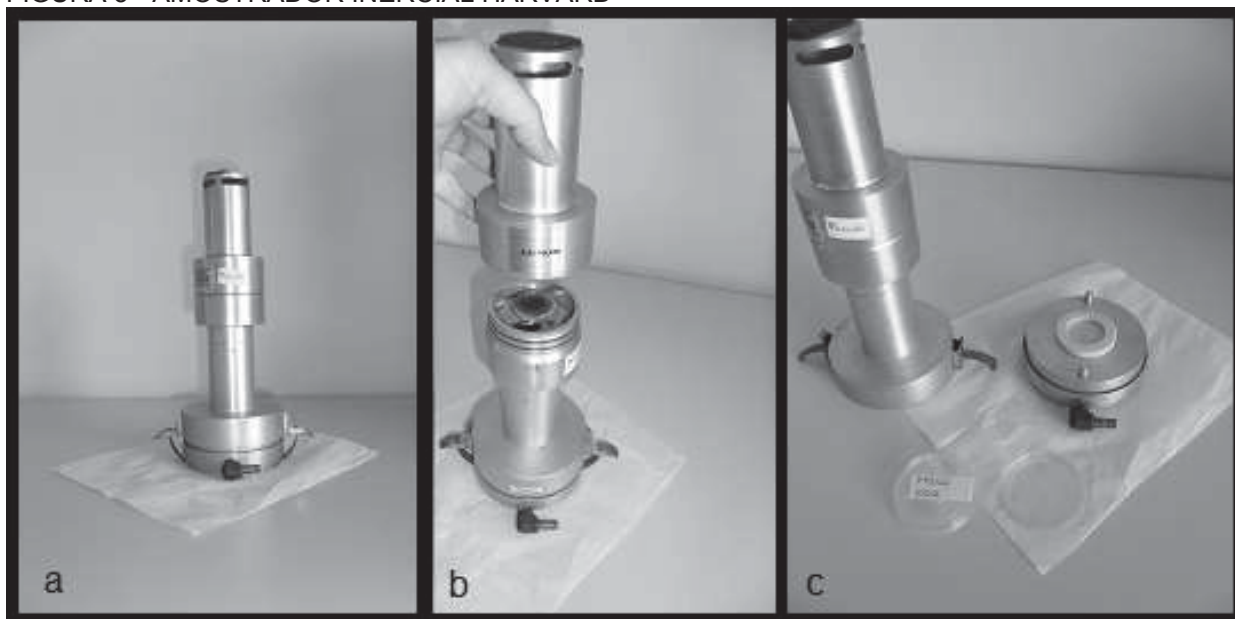
#### 3.1 AMOSTRAGEM

O material particulado atmosférico foi amostrado em filtros de polycarbonato nucleopore®, da marca Whatman. O filtro de polycarbonato foi escolhido para amostragem por se tratar de um material inerte e por ser praticamente livre de substâncias de interesse. Para a coleta do MP<sub>2,5</sub> utilizou-se o impactador inercial do tipo Harvard, desenvolvido pela Escola de Saúde Pública de Harvard, conectado a uma bomba de vácuo, um horímetro, um medidor de vazão e um fluxímetro.

O impactador foi desenvolvido para que o ar entre pela parte superior do equipamento (FIGURA 5 a) de uma forma que seja acelerado em direção a um disco poroso (FIGURA 5 b). As partículas presentes no ar com tamanho aerodinâmico acima do tamanho de interesse impactam no disco poroso, e são aderidas por uma fina camada de óleo mineral presente. O restante das partículas desvia do disco e é depositada em um filtro de polycarbonato na parte inferior do impactador (FIGURA 5 c). O ajuste da vazão de ar e das distâncias entre a entrada das partículas na câmara do amostrador em que se encontra o disco impactador, determinadas pelo fabricante do equipamento, permite a determinação do ponto de corte do tamanho das partículas amostradas (USEPA, 2008).

Além da substituição de filtro, realizou-se o registro cursivo das informações na ficha de monitoramento. As seguintes informações foram registradas: horário de início e término da coleta; vazão de ar inicial e final (volume total de ar amostrado); número de horas de operação do equipamento; vazão de ar indicado no medidor de vazão; identificação do filtro limpo; registro de anomalias.

FIGURA 5 - AMOSTRADOR INERCIAL HARVARD



FONTE: A autora.

Os filtros foram armazenados individualmente em placas de Petri, protegidos por um tubete com capacidade de 10 filtros, cada um, mais um filtro chamado de “branco”. Para a coleta de  $MP_{2,5}$ , a bomba de vácuo foi ajustada à vazão de  $10 \text{ L min}^{-1}$ , e o amostrador posicionado a dois metros de altura acima do solo, pois por este estudo se tratar de efeitos na saúde humana, esta é próxima a altura do ar inspirado por uma pessoa.

Após amostragem, os filtros foram levados para laboratório onde foram avaliados com relação a presença de algum material (insetos, sujeira grossa, água, etc.), e uniformidade na deposição do  $MP_{2,5}$ , sendo estes descartados.

Para determinar a concentração mássica do  $MP_{2,5}$  amostrado, os filtros coletados foram pesados antes e depois da amostragem em uma microbalança com auxílio de um eliminador eletrostático e seguindo a norma (NIOSH 5000). A sala de pesagem possui controle de temperatura ( $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e umidade (50%) com o uso de um desumidificador. Além disso, manteve-se os filtros nestas condições durante 24 horas antes de cada pesagem. Para prevenir qualquer tipo de contaminação e atender a tais critérios, os filtros são mantidos em um dessecador. Os critérios da norma de controle de temperatura e umidade provem um ambiente similar entre as etapas de pesagem antes e depois da amostragem de forma que esses fatores não interfiram no peso do filtro.

### 3.2 LOCAIS E DATAS DE AMOSTRAGEM

Os locais de amostragem foram escolhidos pela localização representativa cercada por vias de alto tráfego, acesso, disponibilidade de energia elétrica, segurança e apoio logístico. Geralmente as amostragens de qualidade do ar de material particulado são realizadas em um período diário de modo que as concentrações atmosféricas sejam comparadas aos padrões estabelecidos. Porém, como o objetivo geral deste estudo foi investigar a fração mássica inorgânica do material particulado solúvel no fluido pulmonar, o período de amostragem foi determinado pelos fatores: quantidade mássica necessária para determinação das amostras no equipamento disponível para análise da fração solúvel (limite de quantificação); vazão de amostragem do amostrador Harvard ( $10 \text{ L min}^{-1}$ ); tempo total requerido para amostragem de uma quantidade significativa de amostras; e disponibilidade de colaboradores especificamente no caso de Manaus. Além disso,

#### 3.2.1 Manaus

Na cidade de Manaus as amostragens ocorreram na Faculdade Boas Novas (FIGURA 6), com coordenadas geográficas  $3^{\circ}6'12.5'' \text{ S } 59^{\circ}58'55.8'' \text{ O}$ , como parte dos objetivos do projeto universal chamada 14/2014 “A poluição atmosférica urbana: Análise Integrada do Risco Ambiental na cidade de Manaus”. A coleta do  $\text{MP}_{2,5}$  ocorreu de Agosto de 2015 a Agosto de 2016, sendo que inicialmente pretendiasse realizar a amostragem diária dos filtros (24 horas). Porém, devido a disponibilidade dos colaboradores em Manaus de realizarem a troca dos filtros, o período de amostragem variou entre 1 e 11 dias

A amostragem ocorreu próximo a uma avenida com intenso fluxo de veículos que liga diversos bairros da cidade com os distritos industriais, e diversas vias de trânsito locais. O local de amostragem também é próximo ao campus da Universidade Federal do Amazonas com um fragmento de 6,7 milhões de metros



quadrados de floresta, e da sede do INPA (Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia) em Manaus.

FIGURA 6 - LOCAL DE AMOSTRAGEM DO  $MP_{2,5}$  EM MANAUS



FONTE: GOOGLE MAPS E GOOGLE EARTH (2017).

### 3.2.2 Curitiba

A Estação Meteorológica do INMET – Campus Politécnico- UFPR foi o local escolhido para as amostragens deste estudo em Curitiba. As coordenadas geográficas do INMET são: latitude de 25° 26' 93'', longitude de 49° 13' 85'' e altitude de 924 metros (FIGURA 7).

FIGURA 7 - LOCAL DE AMOSTRAGEM DO  $MP_{2,5}$  EM CURITIBA



FONTE: GOOGLE MAPS E GOOGLE EARTH (2017).

A amostragem ocorreu próximo a duas rodovias de trânsito intenso (BR-116 e BR-277), além de conter várias vias de trânsito locais e estacionamentos,



vegetação abundante e algumas indústrias localizadas ao Sul da região de amostragem. As duas rodovias são importantes vias de acesso do transporte de mercadorias norte-sul do país pela BR-116(ARTERIS, 2013), além de ser ligação com o litoral do Paraná, inclusive com o Porto de Paranaguá pela BR-277(DER, 2013).

Para avaliação da bioacessibilidade dos metais no ALF, as amostras de Curitiba foram amostradas cada uma pelo período de 7 dias. Essa escolha recaiu nos resultados obtidos anteriormente na cidade onde foram feitas amostragens diárias. Observou-se que a massa dos metais de interesse presente no MP<sub>2,5</sub> seria muito baixa em amostragens diárias para possibilitar volume de amostra incubada (mL) e concentração do analito no fluido pulmonar artificial ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) que pudesse estar acima dos limites de detecção e quantificação do espectrômetro de absorção atômica com forno de grafite. Com 7 dias de amostragem, na média as amostras apresentariam massa dos elementos analisados acima do limite de detecção (LOD) e do limite de quantificação (LOQ), para a técnica de análise da fração solúvel. As amostragens ocorreram de 17 de novembro de 2014 a 15 de julho de 2015.

### 3.3 DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO TOTAL DOS METAIS DE INTERESSE NAS AMOSTRAS DE MP<sub>2,5</sub>

#### 3.3.1 Instrumentação

A técnica de espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDXRF) é usada para determinações rápidas e quantitativas de todos os elementos, exceto os mais leves, e análises qualitativas de elementos de número atômico acima do oxigênio. Além disso, trata-se de uma análise não destrutiva de materiais sólidos (pastilhas, pós ou filtrados) e líquidos necessitando de pouco ou nenhum preparo de amostra.

Em princípio, quando um elemento de uma amostra é excitado com raios X, os elétrons desse elemento tendem a serem ejetados para camadas atômicas superiores, e como consequência disto, elétrons dos níveis mais afastados realizam um salto quântico para preencher a vacância. Cada transição eletrônica constitui

uma perda de energia para o elétron, e esta energia é emitida na forma de um fóton de raios X (radiação fluorescente de raios X com energias discretas), o qual apresenta característica energética bem definida para cada elemento (HOLLER, SKOOG e CROUCH, 2009). Ao se medir as diferentes energias emitidas pela amostra é possível então se determinar quais elementos estão presentes (análise qualitativa). A intensidade de cada energia característica emitida permite saber quanto de cada elemento está presente na amostra.

Para a determinação da concentração total dos metais estudados no MP<sub>2,5</sub> utilizou-se o espectrômetro de fluorescência de raios X MiniPal 4 (PANalytical, Almelo, The Netherlands). A partir de padrões de aerossol específicos semelhantes à composição da amostra obteve-se as curvas de calibração. Os padrões foram gerados e certificados pela MICROMATTER™ em membranas de policarbonato da marca Nucleopore®, membrana também utilizada nas amostras.

Para a determinação de Cu, Cr, Mn e Pb utilizou-se voltagem de 30kV e corrente de 0,3mA, além de um filtro de 50 µm de espessura de Alumínio entre o tubo e a amostra, de forma a minimizar o ruído (perfl de fundo) gerado pela radiação espalhada do tubo de raios x no detector. Além disso, todo o sistema foi mantido em atmosfera de Hélio (gás nobre não detectável pela técnica EDXRF e de baixo número atômico), para eliminar a radiação de fundo pelos elementos presentes no ar (HOLLER, SKOOG e CROUCH, 2009). Através do *software* do equipamento, fez-se o processamento dos resultados obtidos. Além da análise dos filtros amostrados, fez-se a análise dos filtros brancos de modo que se pudesse verificar possíveis contribuições a massa dos elementos estudados devido a contaminação durante os procedimentos de amostragem, transporte, armazenamento e devido ao próprio material de coleta.

### 3.3.2 Avaliação das Figuras de mérito

Utilizou-se a referência de aerossol atmosférico código 2783 obtido do instituto de padrões e tecnologias dos EUA, NIST (*National Institute of Standards and Technology*) para validação do método pela verificação de exatidão e precisão. A exatidão foi avaliada como a relação entre o valor certificado e o valor médio

observado. Avaliou-se a precisão pelo desvio padrão relativo (RSD%) de 10 medidas do material de referência.

Além disso, por meio da análise de 10 filtros brancos verificaram-se os valores de LOD e LOQ. Os limites de detecção e quantificação do método foram obtidos multiplicando-se 3 e 10, respectivamente pela equação 1 (SPOLNIK et al., 2005; MARGUÍ et al., 2006; ARANA et al., 2014). A sensibilidade é o coeficiente angular da curva de calibração para cada elemento, o tempo de análise para todos os elementos foi de 600 segundos, e o sinal de fundo do branco foi obtido a partir do sinal de fundo na linha de energia do elemento no espectro de energia para o filtro branco analisado com o método de análise específico para aerossóis.

$$\frac{1}{\text{Sensibilidade } \left( \frac{\mu\text{g cm}^{-2}}{\text{cps}} \right)} \sqrt{\frac{\text{Sinal fundo branco (cps)}}{\text{tempo análise (segundos)}}} \quad (1)$$

### 3.4 ENSAIO *in vitro*

O teste *in vitro* foi realizado com as amostras de MP<sub>2,5</sub> obtidas nas duas cidades estudadas de forma a simular o processo de inalação e solubilização do aerossol atmosférico pelo ser humano. Estão descritos nesse subitem os reagentes utilizados durante todo o procedimento experimental e as etapas do ensaio *in vitro*.

#### 3.4.1 Reagentes

Foram utilizados reagentes químicos de pureza analítica (PA) e água ultrapura obtida a partir do sistema de purificação Aquapur Evolution (18,2 MΩ cm, Permution, Brasil). As soluções preparadas foram armazenadas em frascos de polietileno e mantidas em geladeira. Todos os materiais utilizados no preparo de amostras, soluções e análises foram previamente descontaminados em banho contendo 10% v/v de HNO<sub>3</sub> por 24 horas em seguida enxague com água ultrapura, sendo colocados para secar em local sem contato com poeira e superfícies metálicas.

### 3.4.2 Experimental

Após determinação da composição total elementar, as amostras foram submetidas ao ensaio *in-vitro*. Para tal, sintetizou-se o fluido pulmonar artificial ALF segundo Colombo, Monhemius e Plant (2008), e descrita a seguir. Os reagentes químicos foram adicionados em um balão volumétrico de 1 litro na ordem listada na TABELA 5 para se evitar possíveis precipitações. Além disso, devido a alta carga orgânica desse fluido, a adição de cada reagente foi feita em um béquer com um pouco de água ultrapura e agitação manual até que ocorresse a total solubilização do composto. Somente após a completa solubilização a solução era adicionada no balão volumétrico, e o procedimento era repetido para o reagente seguinte. Depois da adição de todos os reagentes, o balão volumétrico foi completado com água ultrapura até o menisco. Por fim, o pH do fluido pulmonar foi ajustado a  $4,50 \pm 0,02$  com adição de hidróxido de sódio 2,5 M e sendo monitorado com o auxílio de um pHmetro. A solução do fluido pulmonar sintético ALF após preparo foi mantida em refrigeração pelo período máximo de 30 dias para os estudos de otimização de condições experimentais de análise pela técnica GF AAS, e para o ensaio *in vitro* utilizou-se uma solução recém preparada.

Atualmente não existe um protocolo para o estudo *in vitro* de solubilização de compostos em fluido pulmonar artificial. Dessa forma, de modo que se simulasse as condições que poderiam ocorrer no sistema respiratório de modo mais similar as condições reais, foram estudados os diferentes procedimentos utilizados em estudos *in vitro* encontrados na literatura listados nas TABELA 6 a TABELA 9.

Para o ensaio *in vitro* tanto os filtros amostrados quanto os filtros brancos foram inseridos em tubos tipo Falcon, com adição de 6 mL do fluido pulmonar artificial, de modo que os filtros estivessem dentro do recipiente com a face amostrada para dentro do tubo em contato com o fluido, e sem que o filtro as partes do filtro se sobrepusessem de forma que impedisse a solução ALF de manter contato com todas as partes amostradas do filtro, como pode ser visto na FIGURA 8. Além do tubo preparado com o filtro branco, fez-se a adição do fluido ALF em um tubo sem nenhum filtro, mas que havia passado pelos mesmos procedimentos de limpeza que os demais tubos usados para incubação dos filtros amostrados.

FIGURA 8 – AMOSTRAS DE  $MP_{2,5}$  INSERIDAS EM TUBOS TIPO FALCON UTILIZADOS NO ENSAIO *IN VITRO* DE BIOACESSIBILIDADE COM FLUIDO ALF.



A escolha da quantidade de fluido pulmonar adicionado nas amostras para incubação baseou-se em algumas condições listadas a seguir. A primeira condição foi que o filtro adicionado no tubo tipo Falcon estivesse completamente coberto pelo fluido ALF permitindo que todas as partículas amostadas estivessem em contato com a solução. A segunda foi que o volume de amostra (mL) fosse suficiente para determinação da concentração solubilizada pela técnica GF AAS (técnica de análise monoelementar, na qual a amostra passa pelo procedimento de análise no equipamento para cada elemento estudado), contando também com as triplicadas de análise, um volume extra para uma reanálise se fosse necessário, sendo para essa condição estipulado um volume de 1 mL. Contando com as alíquotas para os três tempos de incubação estudados somando um total de 3 mL, Outra condição foi que baseado na massa total encontrada de cada elemento estudado ( $\mu\text{g}$ ), um mínimo valor esperado de solubilização desse elemento no fluido pulmonar (10%), o volume de diluição permitisse que a concentração mínima esperada estivesse acima

do limite de quantificação do método de análise da fração solubilizada. Por fim, estipulou-se o valor de 6 mL de fluido pulmonar que foi adicionado em cada tubo com os filtros amostrados para que se tivesse um volume sobressalente de solução até a retirada da última alíquota de forma que não fosse retirado o material do fundo do tubo.

Os tubos foram agitados 3 vezes manualmente para homogeneizar a solução com o filtro amostrado já adicionado. Contudo, para que a solubilização ocorresse de forma natural, as amostras incubadas não foram submetidas a nenhum procedimento de extração, como banho de ultrassom ou vortex, deixando somente que a solução pulmonar artificial mantivesse contato com as partículas impactadas no filtro. Na sequência, os tubos com as amostras e o fluido pulmonar foram colocados em uma incubadora de agitação orbital da marca Quimis (modelo Q816M20), nas condições de 37 °C e sem luminosidade simulando o ambiente pulmonar, além de 40 rpm de agitação evitando deposição das partículas.

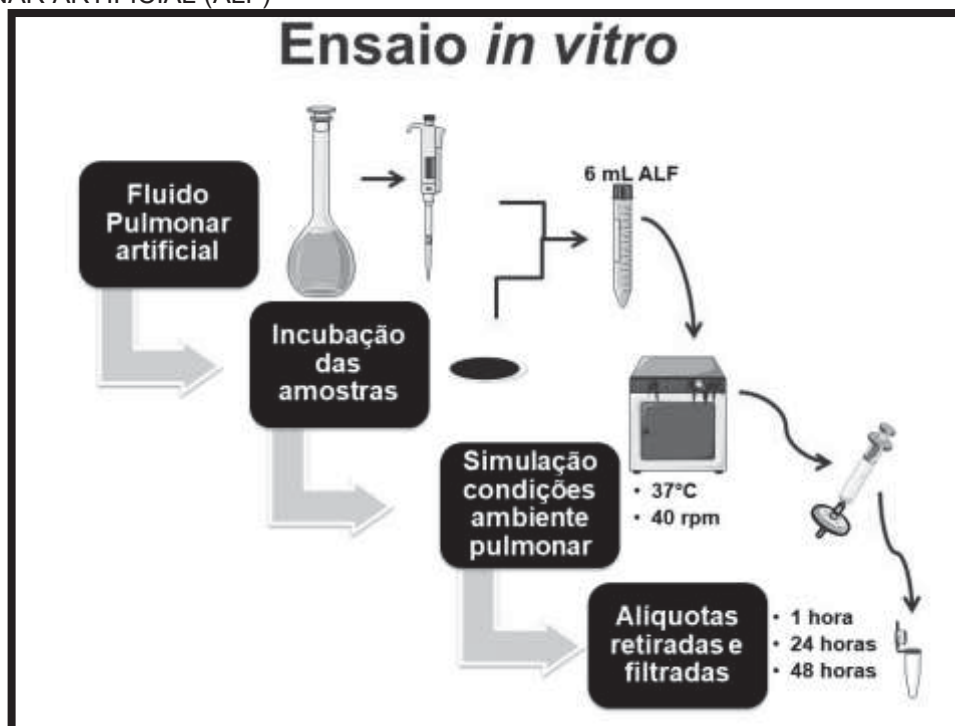
Após 1 hora do período de incubação, uma alíquota de 1 mL foi retirada de cada amostra e filtrada utilizando filtros de seringa de fluoreto de polivinilideno (PVDF) (poro de 0,22 µm), de modo que a fração solubilizada do MP<sub>2,5</sub> fosse separada da fração não solubilizada (sólidos), e portanto garantindo que não houvesse mudança na concentração das partículas solubilizadas.

Na sequência, os tubos com as amostras voltaram para a incubadora até completar os períodos de 24 e 48 h de incubação, quando o processo de obtenção de alíquotas foi repetido. As alíquotas contendo a fração solubilizada do MP<sub>2,5</sub> foram armazenadas na geladeira até a análise. As três alíquotas representam o processo temporal de solubilização que ocorreu para cada amostra de MP<sub>2,5</sub>, do momento que as amostras foram colocadas na incubadora (tempo zero) até 48 horas depois.

A solubilização dos elementos químicos nos períodos de incubação de 1, 24 e 48 h foi baseado no tempo de ação dos mecanismos de limpeza de partículas do sistema respiratório (remoção da maioria das partículas em 24 h na região bronquial (HOFMANN e ASGHARIAN, 2003), e em estudos semelhantes (24 h e 30 dias).

O fluxograma apresentado na FIGURA 9 resume os procedimentos empregados no ensaio *in vitro* das amostras de MP<sub>2,5</sub> obtidas em Curitiba e Manaus para determinação da bioacessibilidade de Cu, Cr, Pb e Mn no fluido pulmonar artificial ALF.

FIGURA 9 - FLUXOGRAMA DO ENSAIO *IN VITRO* DE AVALIAÇÃO DA BIOACESSIBILIDADE DE Cu, Cr, Pb E Mn OBTIDOS DE AMOSTRAS DE MP<sub>2,5</sub> EM CURITIBA E MANAUS NO FLUIDO PULMONAR ARTIFICIAL (ALF)



FONTE: A autora.

### 3.5 DETERMINAÇÃO DA FRAÇÃO SOLUBILIZADA DOS METAIS DE INTERESSE NO FLUIDO PULMONAR ARTIFICIAL

#### 3.5.1 Instrumentação

Fluidos biológicos são considerados materiais de difícil análise devido a sua matriz complexa (composição orgânica e/ou salina) além da baixa concentração dos elementos traço (10 µg/L a 100 µg/L). Um dos métodos para a análise de elementos químicos inorgânicos em fluidos biológicos muito empregado é a técnica de GF AAS (IVANENKO et al., 2011). A espectrometria de absorção atômica (AAS) tem sido aplicada para determinar quantitativamente elementos químicos em amostras alimentícias, ambientais, geológicas, biológicas, de maneira rápida simples e precisa (HARRIS, 2008). Uma vantagem dessa técnica se refere a não necessidade de tratamento prévio da amostra, pois tratamentos químicos e térmicos permitem serem



realizados durante as etapas de aquecimento do forno de grafite. (WELZ e SPERLING, 1999).

Essa técnica envolve a geração de uma nuvem atômica a partir da vaporização da amostra utilizando fontes térmicas de energia, geralmente chamas e atomizadores eletrotérmicos (forno de grafite com dimensões aproximadamente de 50 mm de comprimento e 9 mm de diâmetro interno, que por sua vez é aberto dos dois lados e tem um orifício central para introdução da amostra). Uma fonte de radiação primária (geralmente uma lâmpada de catodo oco) emite um feixe de radiação eletromagnética em comprimentos de onda característicos do elemento de interesse. Os átomos da amostra que estão no seu estado fundamental (menos energético), absorvem parte dessa radiação emitida pela fonte, desta forma os elétrons de valência realizam transições eletrônicas para um nível mais energético onde o feixe da radiação incidente atenuado pela amostra chega ao detector.

Seguindo a lei de Lambert e Beer, a intensidade de radiação eletromagnética absorvida pelos átomos no estado fundamental de um determinado elemento está diretamente relacionada à concentração desse elemento. A medida da absorção, obtida pela diferença entre a quantidade de radiação emitida pela fonte primária e a quantidade de radiação que atinge o detector após incidir sobre a amostra, fornece a concentração total do elemento químico na amostra (HOLLER, SKOOG e CROUCH, 2009).

As análises em GF AAS exigem condições apropriadas para cada tipo de amostra, estabelecendo um programa de aquecimento com quatro ou mais etapas (secagem, pirólise, atomização, limpeza). A etapa de pirólise é a etapa de tratamento térmico da amostra dentro do tubo pois, promove-se a destruição da matéria orgânica e a consequente remoção dos compostos inorgânicos da matriz, sendo de grande importância não haver a perda do analito (volatilização) nessa etapa. Uma etapa de pirólise bem otimizada proporciona uma razão sinal do analito por sinal de fundo elevada, permitindo a quantificação do analito com exatidão e precisão satisfatórios (COMMUNITIES, 2002). Na etapa de atomização ocorre a volatilização do analito usualmente sob temperaturas em torno de 2000 - 3000 °C por um curto período de tempo (1-2 segundos) com instantânea interrupção do gás de proteção, argônio. A absorvância atinge seu valor máximo e diminui progressivamente à medida que a nuvem atômica gerada é naturalmente dissipada.

Desta forma, o sinal analítico obtido é um sinal analítico tipo transiente referente a absorbância integrada na etapa de atomização (HARRIS, 2008). A temperatura final obtida deve ser suficiente para gerar átomos do analito no seu estado fundamental (VOGEL, 2008).

O uso de modificador químico também contribui para um melhor desempenho da técnica, facilitando a separação térmica entre o analito e a matriz na etapa de pirólise. Nessa etapa o modificador químico estabiliza termicamente o analito, possibilitando empregar temperaturas bastante elevadas favorecendo a eliminação dos interferentes, o que não seria possível sem a presença dessas substâncias que atuam como modificadores químicos. Dessa forma as interferências matriciais são reduzidas levando a baixos sinais de fundo durante a etapa de atomização. A mistura composta por nitrato de paládio e nitrato de magnésio é conhecida como modificador universal (WELZ e SPERLING, 1999), isto é, essa mistura pode ser empregada para a quantificação da maioria dos elementos químicos inorgânicos.

Para as medidas analíticas da concentração solubilizada (fração bioacessível) de Cu, Pb, Mn e Cr utilizou-se um GF AAS (modelo AA6800, Shimadzu) com um atomizador GFA-EX7, e auto amostrador ASC6100. Para correção de sinal de fundo (possíveis interferências espectrais que ocorrem devido ainda a presença de interferentes na etapa de atomização do analito) utilizou-se uma lâmpada de deutério, para dessa forma garantir satisfatória exatidão e precisão das análises químicas.

Foram utilizados como atomizadores eletrotérmicos tubos de grafite longitudinais com recobrimento pirolítico (produzido pela decomposição térmica de um vapor orgânico (gás metano) que sela a superfície original, porosa e absorvente de átomos), gerando uma superfície com baixa permeabilidade e alta resistência ao ataque químico (IVANENKO et al., 2011). Essa superfície proporciona aumento na sensibilidade das medidas reduzindo possíveis efeitos de memória que ocorrem devido a deterioração do tubo.

Empregou-se gás Argônio como gás de purga e arraste dos elementos químicos volatizados durante as etapas de aquecimento com exceção da etapa de atomização (HOLLER, SKOOG e CROUCH, 2009), para que não haja dispersão da

nuvem atômica antes da determinação da absorção da radiação que passa pelo atomizador (VOGEL, 2008). Os fluxos ininterruptos de gás externo ao tubo (passando pela câmara de gás), e água na câmara de água protegem o tubo quente do ar atmosférico.

Para as fontes de emissão de radiação foram utilizadas lâmpadas de catodo oco (Photonics) nos respectivos comprimentos de onda: 324,8 nm para Cu, 283,3 nm para Pb, 279,5 nm para Manganês, e 360,5 nm para Cr. Para as quantificações dos analitos empregou-se a área do pico da absorbância integrada (sinal transiente da absorbância no tempo).

Foram utilizados volumes de injeção de 20 µL para amostras e soluções padrões de calibração, e 5 µL de modificador químico de Pd e Mg em diferentes níveis de concentração. As condições instrumentais otimizadas para os elementos quantificados estão apresentadas na TABELA 10.

TABELA 10 - PROGRAMA DE AQUECIMENTO PARA A DETERMINAÇÃO DE Cu, Pb, Mn E Cr EM FLUIDO LISOSSOMAL ARTIFICIAL POR GF AAS.

<b>Etapa</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tempo (s)</b>	<b>Aquecimento</b>	<b>Vazão gás (L min<sup>-1</sup>)</b>
Secagem 1	85	5	Rampa	0,1
Secagem 2	110	50	Rampa	0,1
Pirólise 1	Tp	10	Rampa	1,0
Pirólise 2	Tp	10	Plataforma	1,0
Pré Atomização	Tp	3	Plataforma	0
Atomização	Ta	3	Plataforma	0
Limpeza	2500	2	Plataforma	1,0

FONTE: A autora.

### 3.5.2 Reagentes

Ácido nítrico de concentração 37% (v/v) ultrapuro obtido por meio de sistema de destilação sub-boiling em quartzo foi empregado para as análises químicas. As soluções padrão de calibração foram preparadas a partir de diluições apropriadas de soluções estoque contendo 1000 mg L<sup>-1</sup> de Cu, Pb, Mn e Cr (SpecSol, Brasil) em 1% (v/v) HNO<sub>3</sub> ultrapuro. Soluções de Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> e Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> em diferentes níveis de

concentração foram utilizadas como modificadores químicos para a determinação dos analitos no GF AAS a partir da diluição da solução estoque contendo  $10 \text{ g L}^{-1}$  em 1% (v/v)  $\text{HNO}_3$  ultrapuro de  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  e  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ . As soluções estoque  $10 \text{ g L}^{-1}$  de  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  e  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  foram preparadas em frascos separados pela respectiva dissolução de 0,6259 g de  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), e 2,6709 g de  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) em 25 mL de solução 1% (v/v)  $\text{HNO}_3$  ultrapuro.

Para o sistema de limpeza da tubulação de injeção do auto amostrador do GF AAS utilizou-se uma solução 1% (v/v)  $\text{HNO}_3$  com 0,1% (v/v) Triton X-100 (VETEC, Duque de Caxias, Brasil) preparada pela diluição de uma alíquota de 1 mL de Triton X-100 diluída em 1000 mL de solução contendo 1% (v/v)  $\text{HNO}_3$ .

### 3.5.3 Estratégias de otimização das condições instrumentais do GF AAS para os analitos.

Para a quantificação dos metais na matriz de fluido lisossomal artificial foram empregadas diferentes estratégias para tratamento e remoção da matéria orgânica presente na matriz (interferentes químicos) possibilitando a análise das amostras com mínima interferência. Podendo desta forma empregar métodos analíticos para quantificação de cada elemento químico a ser investigado nesse trabalho.

Para tal finalidade foram empregadas diferentes soluções:

- Solução contendo 1% (v/v)  $\text{HNO}_3$  ultra puro (branco de reagente - br)
- Solução diluída de cada metal em 1% (v/v)  $\text{HNO}_3$  para o nível de concentração requerido (solução padrão - sp)
- Fluido lisossomal artificial (branco de amostra - ba)
- Fluido lisossomal artificial com adição do metal na mesma concentração da solução padrão (amostra fortificada - af md)

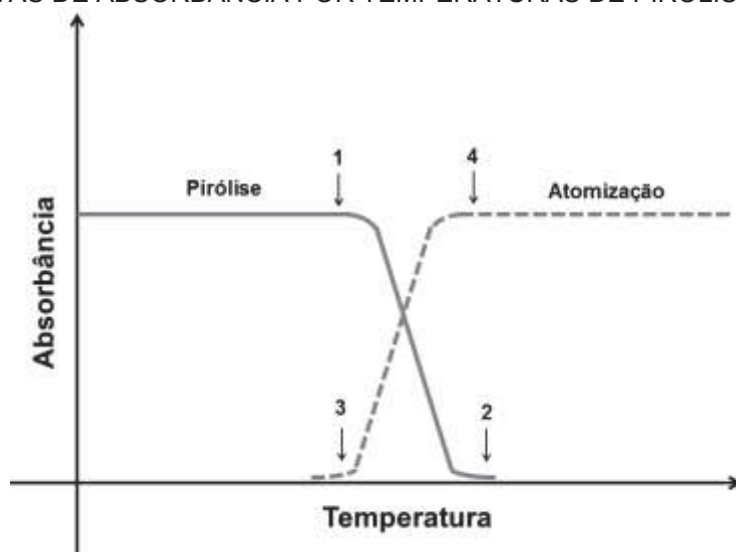
Para o desenvolvimento do método analítico comparou-se o valor do sinal de absorbância da amostra fortificada ( $\text{Abs}_{\text{af}}$ ) com o valor do sinal de absorbância da solução padrão em meio ácido ( $\text{Abs}_{\text{sp}}$ ). Sendo a recuperação dada pela equação 2 e

os valores aceitáveis para otimização do método devem estar entre 80% - 120%, conforme sugerido pela diretiva da comunidade europeia (COMMUNITIES, 2002) e Instituto Nacional Metrológico (INMETRO)(INMETRO, 2018).

$$Rec = \frac{Abs_{af}}{Abs_{sp}} \times 100\% \quad (2)$$

Para o desenvolvimento do método de análise de Cu, Cr e Mn na matriz estudada empregou-se estudo univariado obtendo-se as curvas de temperatura de pirólise e de atomização com o uso de modificador químico na matriz previamente fortificada com  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  do analito. As curvas de pirólise e atomização consistem em duas curvas complementares da absorbância integrada nas temperaturas estudadas, como indicado na FIGURA 10.

FIGURA 10 - CURVAS DE ABSORBÂNCIA POR TEMPERATURAS DE PIRÓLISE E ATOMIZAÇÃO



FONTE: A autora.

A curva de pirólise, geralmente otimizada primeiramente em relação à temperatura de atomização, é obtida a partir de estudos da variável independente “temperatura de pirólise” pela variável dependente “absorbância”, para uma temperatura fixa de atomização. Para tal, escolhe-se a maior temperatura da curva de pirólise antes que o sinal de absorbância diminua (ponto 1 da FIGURA 10). Para a otimização da temperatura de atomização fixa-se a temperatura ótima de pirólise encontrada e varia-se as temperaturas de atomização para o analito. Desta forma a

temperatura de atomização satisfatória corresponde a menor temperatura obtida na curva plotada, isto é, antes que o sinal de absorbância do analito permaneça constante (ponto 4 da FIGURA 10) (WELZ e SPERLING, 1999).

O tratamento térmico da matriz ALF para o elemento chumbo foi avaliado por meio de um planejamento fatorial. Optou-se pelo uso do planejamento devido ao fato do Pb ser um elemento volátil e por tanto de maior dificuldade de determinação na amostra em estudo como também observado na literatura (DAMIN et al., 2007).

Primeiramente, foram estudados os parâmetros temperatura de pirólise e atomização, concentração do modificador químico contendo Pd e Mg por meio de um planejamento fatorial completo com ponto central. Por se tratar de planejamento fatorial completo de 4 fatores a ser investigado, foi aplicado um planejamento  $2^4 = 16$  experimentos realizados em duplicata totalizando 32 experimentos. Para cada condição experimental analisada foi utilizado a razão obtida entre sinal de absorbância da amostra fortificada e solução padrão, ambas no mesmo nível de concentração ( $50 \mu\text{g L}^{-1}$  de Pb).

Os experimentos foram realizados de forma aleatória, empregando-se o *software* Statística 7.0 (StarSoft, Tulsa, USA) para o tratamento dos resultados obtidos. A escolha dos valores para o nível superior (+) e inferior (–) foram obtidos a partir das diferentes condições estabelecidas, como apresentado na TABELA 11. Os valores escolhidos para o planejamento estão apresentados na TABELA 12.

TABELA 11 - TEMPERATURA DE PIRÓLISE (Tp) E ATOMIZAÇÃO (Ta), E CONCENTRAÇÃO DE MODIFICADOR QUÍMICO Pd E Mg USADOS PARA DETERMINAÇÃO DE Pb EM DIFERENTES TIPOS DE AMOSTRAS NA LITERATURA POR GF AAS.

Referência	Amostra	Tp (°C)	Ta (°C)	Pd (µg)	Mg (µg)
(BORGES et al., 2014)	Fertilizante	900	1900	5/10/20	3/6/12
(CALDAS, OLIVEIRA e GOMES NETO, 2009)	Cachaça	1200	2000	5	3
(DAMIN et al., 2007)	Carne	1000	2000	5	3
(DESSUY et al., 2008)	Vinho	900	2000	5	3
(GARCÍA et al., 2005)	Mel	950	1850	18	18
(FRESCHI et al., 2012)	Leite	1200	2100	5	3
(VALE et al., 2001)	Óleo de cozinha	1000	2000	5	3
(DESSUY et al., 2011)	Cerveja e vinho	900	2000	10	6
(VIITAK e VOLYNSKY, 2006)	Sangue e algas	700	2000	10	-
(REYES e CAMPOS, 2005)	Gasolina e diesel	750/900/1000	1750/1800	10	15
(SCHLEMMER e WELZ, 1986)	-	1000	1900	15	10
(AJTONY et al., 2008)	Vinho	1100/1300	1700/1500	5/20	3/12

FONTE: A autora.

TABELA 12 – VALORES PARA OS NÍVEIS SUPERIOR (+) E INFERIOR (-) EMPREGADOS NO PLANEJAMENTO FATORIAL COMPLETO PARA OS PARÂMETROS AVALIADOS NA DETERMINAÇÃO DE Pb POR GF AAS EM FLUIDO LISOSSOMAL ARTIFICIAL.

Parâmetro	Nível Superior	Nível Inferior
	(+1)	(-1)
Quantidade de Pd (µg)	20	5
Quantidade de Mg (µg)	18	3
T de pirólise (°C)	1300	700
T de atomização (°C)	2200	1700

FONTE: A autora.



Após análise dos parâmetros significativos nos valores de recuperação do Pb em fluido, aplicou-se um planejamento composto central, CCD (planejamento tipo estrela), sendo possível fazer um refino dessas condições experimentais empregando um reduzido número de experimentos. Desta forma, por meio do estudo da interação dos fatores significativos, foi possível encontrar uma condição ótima instrumental para a quantificação de Pb. Neste tipo de planejamento os parâmetros também são avaliados em mais 3 níveis (0,  $-\sqrt{2}$ ,  $+\sqrt{2}$ ), e por fim, foram avaliados como resposta os valores de recuperação de Pb na matriz de análise. A partir dos resultados obtidos, gráficos de superfície de resposta foram construídos possibilitando encontrar uma condição instrumental ótima para a determinação de Pb.

#### 3.5.4 Figuras de mérito

Para a qualidade e a aplicabilidade dos métodos desenvolvidos foram avaliados parâmetros de performance analítica como limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), linearidade, precisão e exatidão. Nesses estudos, soluções padrão de calibração dos elementos investigados foram adequadamente preparadas para o nível de concentração desejada em meio de 1% HNO<sub>3</sub> (v/v). Amostras de fluido lisossomal artificial com e sem adição de cada elemento químico também foram preparadas.

Calculou-se os limites de detecção e quantificação como 3 e 10 vezes o desvio-padrão da medida de 10 análises do branco analítico, isto é, do fluido lisossomal artificial sem a presença dos respectivos elementos químicos estudados dividido pelo coeficiente angular da curva analítica de calibração (INMETRO, 2018).

A precisão foi avaliada por meio de valores obtidos para os teores dos analitos na amostra fortificada, expresso pelo desvio padrão relativo (%RSD).

Curvas analíticas de calibração em meio ácido foram construídas utilizando o *software* Origin (OriginLab Corporation). Os parâmetros estatísticos: faixa linear e o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) também foram analisados nas curvas analíticas, podendo por meio desses parâmetros avaliar a sensibilidade e a exatidão das curvas empregadas.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 VALIDAÇÃO DE MÉTODO PARA A TÉCNICA EDXRF

Realizou-se a validação do método de determinação de Cu, Cr, Mn e Pb em material particulado atmosférico amostrados em filtros de polycarbonato usando a técnica de EDXRF por meio das figuras de mérito descritas na seção 3.3.2. Os valores de exatidão e precisão foram obtidos da análise do material de referência 2783 NIST, sendo os resultados apresentados na TABELA 13. Verificou-se ótima concordância entre os valores certificados e obtidos pela metodologia utilizada, e consequentemente validando a exatidão do método. Além disso, observou-se uma boa precisão, próximo de limites aceitáveis (RSD <10%), do método para análise das amostras.

TABELA 13 - COMPARAÇÃO DO VALOR MÉDIO E DESVIO PADRÃO CERTIFICADO PARA Cu, Cr, Mn E Pb DO MATERIAL DE REFERÊNCIA 2783 NIST COM VALORES OBTIDOS USANDO O EDXRF MINIPAL 4, E O DESVIO PADRÃO RELATIVO (RSD%)

	Exatidão				Precisão	
	Certificado ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )		Observado ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )		REC	RSD (%)
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão		
<b>Cu</b>	0,041	0,004	0,042	0,002	102	3,8
<b>Cr</b>	0,014	0,003	0,016	0,001	114	11
<b>Mn</b>	0,032	0,001	0,030	0,002	93,8	11
<b>Pb</b>	0,032	0,005	0,031	0,002	96,9	3,2

FONTE: A autora.

Os LOD e LOQ do método foram obtidos como descrito anteriormente na seção 3.3.2, e estão apresentados na TABELA 14, sendo os mesmos utilizados para validar os resultados das análises das amostras.

TABELA 14 - LIMITES DE DETECÇÃO ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ ) E QUANTIFICAÇÃO ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ ) PARA Cu, Cr, Mn e Pb EM FILTRO DE POLICARBONATO NO EDXRF MINIPAL 4

	LOD ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )	LOQ ( $\mu\text{g cm}^{-2}$ )
<b>Cu</b>	0,0003	0,0011
<b>Cr</b>	0,0004	0,0013
<b>Mn</b>	0,0003	0,0012
<b>Pb</b>	0,0008	0,0027

FONTE: A autora.

## 4.2 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES INSTRUMENTAIS DO GF AAS

Serão descritas as otimizações das condições instrumentais para os elementos individualmente, pois cada elemento químico requer condições específicas de temperatura e modificadores químicos para maior remoção de interferentes químicos e menor perda do analito analisado, como descrito anteriormente para a técnica de GFAAS.

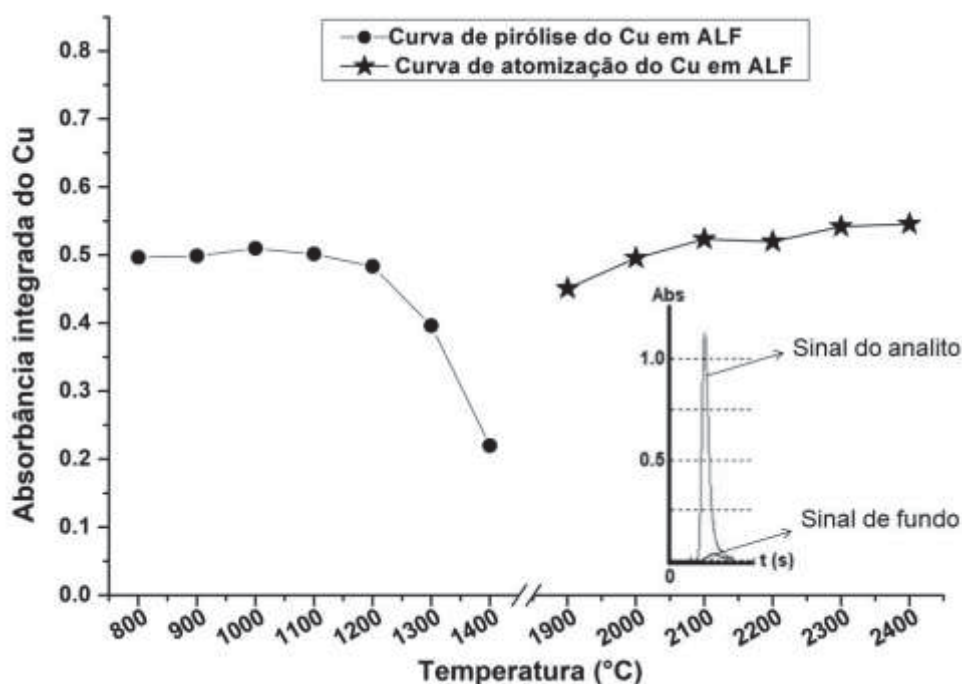
### 4.2.1 Cobre

Avaliou-se o efeito da temperatura de pirólise com o uso de modificador químico Pd-Mg (5  $\mu\text{g}$  - 0,5  $\mu\text{g}$ ) (WELZ e SPERLING, 1999) sobre o valor de absorbância do analito na matriz (fluido lisossomal artificial) em nível de concentração de 25  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Utilizando-se a temperatura fixa de atomização de 2300 °C (obtida do programa *default* do *software* do equipamento, WizAArd 2.30, Shimadzu Corporation), variou-se a temperatura de pirólise de 800 °C à 1400 °C. Os valores de absorbância obtidos estão apresentados na FIGURA 11.

Os valores de absorbância de Cu para a matriz ALF permaneceram aproximadamente constantes até a temperatura de 1100 °C, FIGURA 11. Porém, acima de 1200 °C o valor de absorbância diminuiu, indicando perda do analito Cu, provavelmente devido a sua volatilização. Com isso, a temperatura ótima de pirólise de 1100 °C foi escolhida devido as adequadas condições térmicas de eliminação da maior parte dos interferentes sem perda do analito. Após a otimização da temperatura de pirólise a temperatura de atomização do analito também foi otimizada, fixando-se a temperatura de pirólise otimizada, e variando-se a temperatura de atomização de 1900 °C à 2400 °C.

Os valores da absorbância obtidos com a variação da temperatura de atomização aumentaram ligeiramente de 1900 °C a 2100 °C, estabelecendo a  $T_a = 2100^\circ\text{C}$  como a temperatura ótima de atomização dentro das condições avaliadas também devido a apropriada sensibilidade (indicada pela razão sinal de absorbância pelo sinal de fundo) como pode ser observado na FIGURA 11.

FIGURA 11 - INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DE PIRÓLISE ( $T_p$ ) ( $T_a$  FIXA EM  $2300^\circ\text{C}$ ) E TEMPERATURA DE ATOMIZAÇÃO ( $T_a$ ) ( $T_p$  FIXA EM  $1100^\circ\text{C}$ ) NA ABSORBÂNCIA DO Cu NA MATRIZ FORTIFICADA COM  $25\ \mu\text{g L}^{-1}$  Cu NA PRESENÇA DE MODIFICADOR QUÍMICO ( $5\ \mu\text{g Pd}$  :  $0.5\ \mu\text{g Mg}$ )



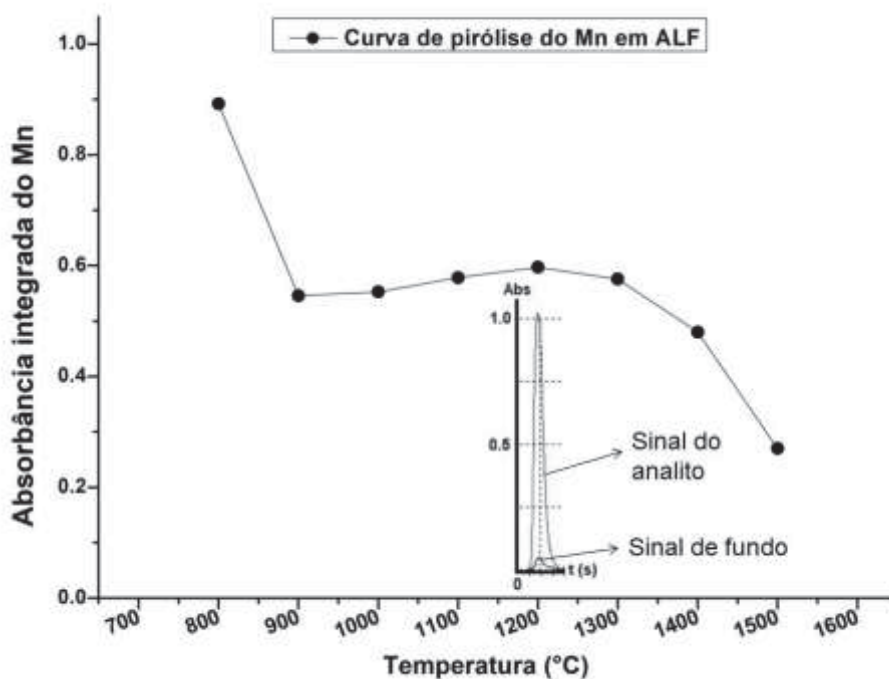
FONTE: A autora.

As melhores condições de determinação de Cu na matriz fluido lisossomal artificial foram: emprego de modificador químico Pd-Mg nas quantidades de  $5\ \mu\text{g}$  e  $0,5\ \mu\text{g}$  respectivamente, temperatura de pirólise  $1100^\circ\text{C}$ , e temperatura de atomização de  $2100^\circ\text{C}$ , obtendo-se nessas condições estabelecidas, valores de recuperações de 87 a 101% para Cu no fluido. As temperaturas de pirólise e atomização otimizadas para o elemento Cu, foram empregadas nas posteriores análises químicas desse elemento na matriz de fluido lisossomal artificial.

#### 4.2.2 Manganês

Para o estudo da influência da temperatura de pirólise na quantificação do Mn na matriz utilizou-se 2 µg do modificador químico  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ , por ser específico para Mn (WELZ e SPERLING, 1999). Conforme apresentado na FIGURA 12, variou-se a temperatura de pirólise de 800 °C a 1500 °C, com a temperatura fixa de atomização de 2200 °C (atomização *default* do *software* do equipamento e citada da literatura (WELZ e SPERLING, 1999)).

FIGURA 12 - INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DE PIRÓLISE ( $T_p$ ) ( $T_a$  FIXA EM 2200 °C) NA ABSORBÂNCIA DO Mn NA MATRIZ FORTIFICADA COM 25 µg L<sup>-1</sup> Mn NA PRESENÇA DE MODIFICADOR QUÍMICO (2 µg Mg)



FONTE: A autora.

A ótima temperatura de pirólise de 1200 °C foi escolhida levando-se em consideração a melhor razão entre o sinal de absorbância do analito e o sinal de fundo, levando-se em consideração que não ocorra volatilização do analito na etapa de pirólise onde se emprega elevadas temperaturas e, promovendo a eliminação da maior parte dos interferentes da matriz (sinal de fundo).

Por se tratar de um elemento de elevada estabilidade química nas análises por GF AAS, obteve-se uma adequada atomização do Mn na temperatura 2200 °C.

Nas condições otimizadas,  $T_p$  1200 °C,  $T_a$  2200 °C na presença de 2 µg do modificador Mg, os valores de recuperação do Mn foram entre 88 – 105%. Desta forma as posteriores análises químicas para esse elemento foram realizadas nas amostras de fluido lisossomal artificial empregando essas condições estudadas.

#### 4.2.3 Cromo

Antes do estudo do programa de aquecimento e uso de modificador químico para a determinação de Cr na matriz, buscou-se avaliar os sinais obtidos para diferentes comprimentos de onda do Cr em solução padrão empregando-se lâmpada de deutério para correção do sinal de fundo e efeito da adição de modificador químico. Essa avaliação foi conduzida pelo fato de ser reportado na literatura a dificuldade na determinação do Cr com uso da lâmpada de deutério no comprimento de onda de maior intensidade do Cr (357,9 nm). Devido a interferências espectrais há uma supercorreção do sinal de fundo, reduzindo sinal analítico o que pode levar à resultados inexatos (WELZ e SPERLING, 1999). Porém sem o uso do corretor de fundo seria muito difícil a determinação do Cr na matriz estudada.

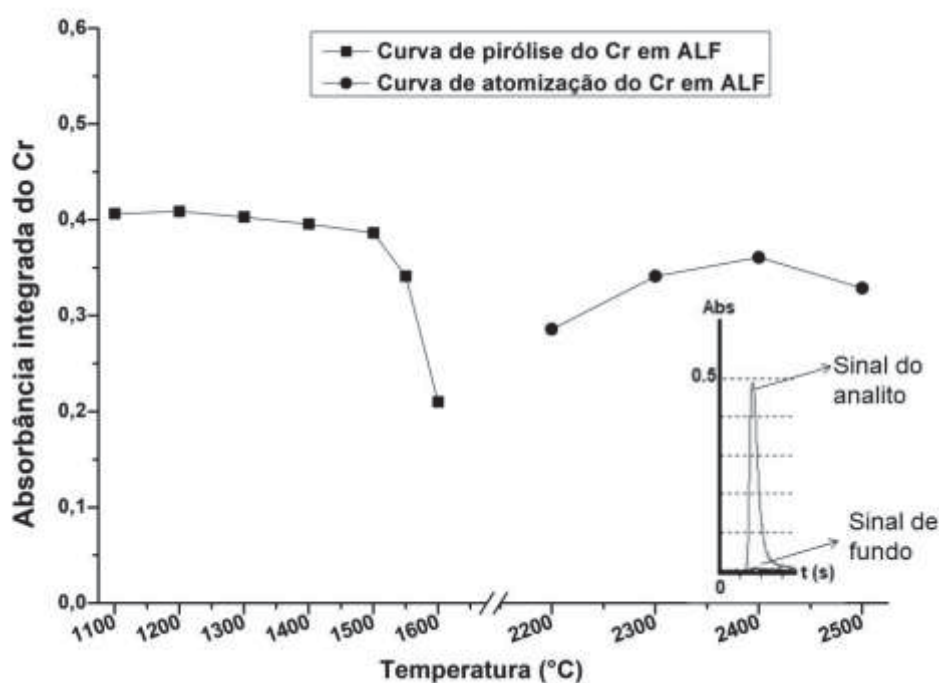
Para tal foram estudadas os 6 comprimentos de onda ( $\lambda$ ) do Cr (357,9 nm, 359,3 nm, 360,5 nm, 425,5 nm, 427,4 nm, 428,9 nm, (WELZ e SPERLING, 1999)). Utilizando as condições *default* de análise  $T_p$  = 800 °C e  $T_a$  = 2300 °C, e adição de 2 µg do modificador químico Mg, foram avaliados os sinais de absorbância para 25 µg L<sup>-1</sup> de Cr na solução padrão e na matriz previamente fortificada no mesmo nível de concentração. Na sequência, os valores de recuperação do analito na linha de energia principal do Cr (357,9 nm) e na linha que apresentou maior razão entre o sinal do analito em relação ao sinal de fundo (360,53 nm) foram avaliados.

Para o  $\lambda$  357,9 nm foram obtidas absorbâncias integradas muito próximas de zero para a solução padrão e matriz, e recuperação de 371%. Além do problema da supercorreção feita pela lâmpada de deutério, observa-se que a matriz não está sendo termicamente tratada pelo GF AAS. Diferentemente, para o  $\lambda$  360,5 nm observou-se uma melhora no sinal do analito tanto na solução padrão quanto na matriz em relação ao  $\lambda$  mais sensível (357,9 nm), obtendo-se valores de recuperação entre 94-101%. Porém, para este último resultado o sinal de fundo

estava maior que o sinal do analito em altura, significando que ainda está presente uma grande carga da matriz na quantificação do analito, requerendo melhor tratamento térmico da amostra. Dessa forma, optou-se por utilizar o  $\lambda$  360,5 nm na otimização da determinação de Cr na amostra de estudo.

Para melhor tratamento térmico da matriz, levando a redução do sinal de fundo devido a presença de interferentes, variou-se a temperatura de pirólise de 1100 °C a 1600 °C para temperatura de atomização fixa de 2300 °C e uso de 2  $\mu$ g Mg como modificador química. Os resultados obtidos estão apresentados na FIGURA 13.

FIGURA 13 - INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DE PIRÓLISE ( $T_p$ ) ( $T_a$  FIXA EM 2300 °C) E TEMPERATURA DE ATOMIZAÇÃO ( $T_a$ ) ( $T_p$  FIXA EM 1550 °C) NA ABSORBÂNCIA DO Cr NA MATRIZ FORTIFICADA COM 25  $\mu$ g L<sup>-1</sup> Cr NA PRESENÇA DE MODIFICADOR QUÍMICO (2  $\mu$ g Mg)



FONTE: A autora.

Como pode ser observado na FIGURA 13, os valores de absorbância do Cr na matriz ALF permaneceram quase constantes até 1550 °C, e diminuíram acima de 1550 °C. A temperatura ótima de pirólise escolhida foi de 1550 °C devido a uma melhor razão sinal de absorbância/ sinal de fundo obtido.

Na sequência, a influência da temperatura de atomização foi avaliada variando-se a  $T_a$  de 2200 °C a 2500 °C com a  $T_p$  fixa de 1550 °C. Na temperatura



de atomização de 2400 °C observou-se o maior sinal de absorbância do Cr para a matriz ALF, indicando condições térmicas apropriadas para quantificação. Nas condições otimizadas a recuperação do Cr foi de 93%.

#### 4.2.4 Chumbo

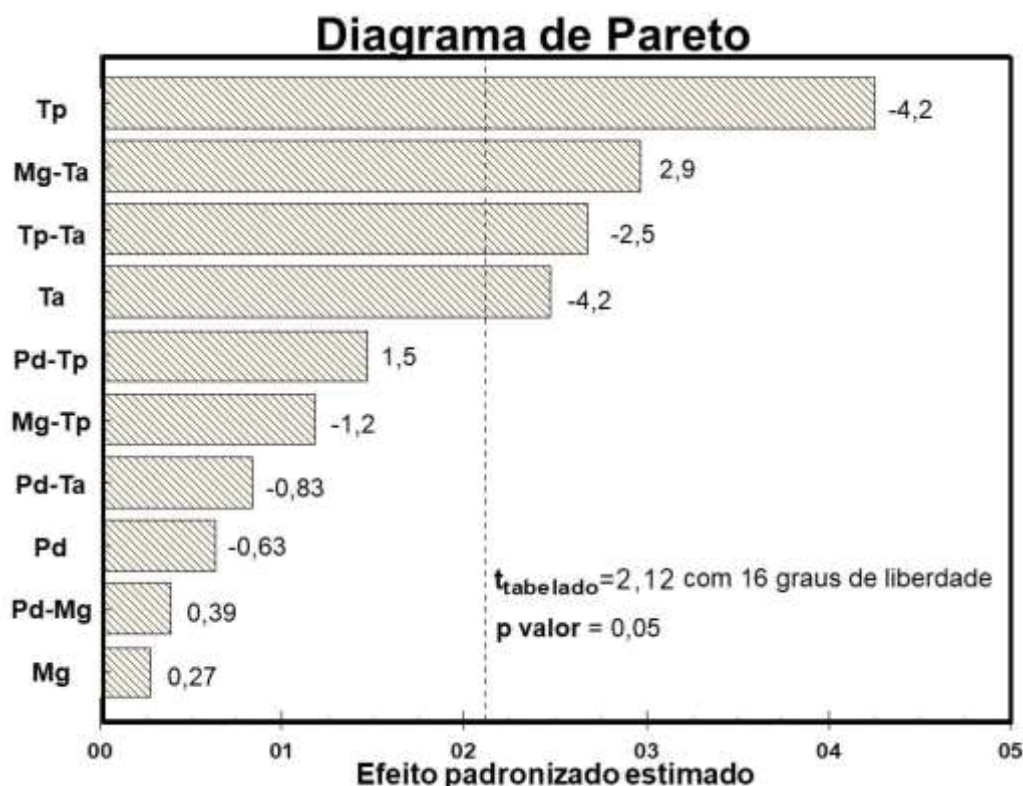
Para otimização da determinação de Pb na matriz primeiramente avaliou-se as interações entre os principais parâmetros do método: temperaturas de atomização e pirólise, e quantidade dos modificadores químicos Pd e Mg por meio de um planejamento fatorial completo. Foram realizados 32 experimentos (16 condições em duplicata) variando-se os parâmetros em dois níveis; superior e inferior (TABELA 12) de forma aleatória. Utilizou-se o software Statistica 7.0 (StarSoft, Tulsa, USA) para tratar os resultados.

A partir dos resultados de recuperação de 50 µg L<sup>-1</sup> de Pb no fluido lisossomal artificial em comparação à solução padrão no mesmo nível de concentração, obteve-se o diagrama de Pareto para avaliação dos efeitos de cada parâmetro, como também uma possível interação desses parâmetros sobre a resposta a encontrar, isto é, o valor de recuperação de Pb na matriz estudada.

A FIGURA 14 é o diagrama de Pareto que reporta a significância dos fatores avaliados sobre a recuperação de Pb no ALF. A influência dos fatores está ordenada de forma decrescente, verificando-se que os parâmetros considerados mais significativos referentes à recuperação de Pb foram: 1) temperatura de pirólise; 2) interação entre temperatura de atomização e quantidade do modificador químico de Mg; 3) interação entre temperatura de atomização e temperatura de pirólise e; 4) temperatura de atomização. As demais interações avaliadas não apresentaram efeitos significativos no valor de recuperação do Pb.

A temperatura de pirólise aparece como parâmetro que mais afeta a recuperação de Pb, como esperado, pois na etapa da pirólise é onde ocorre o tratamento e a remoção de interferentes, porém temperatura de pirólise alta pode levar a evaporação e perda do analito. Por isso a obtenção da ótima temperatura de pirólise é crucial para uma boa determinação analítica do elemento químico (WELZ e SPERLING, 1999).

FIGURA 14 - DIAGRAMA DE PARETO PARA O ESTUDO DA SIGNIFICÂNCIA DOS FATORES AVALIADOS SOBRE O VALOR DE RECUPERAÇÃO DE Pb NA MATRIZ ALF EM COMPARAÇÃO COM A SOLUÇÃO PADRÃO EM NÍVEL DE CONCENTRAÇÃO DE  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ , EMPREGANDO-SE PLANEJAMENTO FATORIAL  $2^4$  COM PONTO CENTRAL.



FONTE: A autora.

A temperatura de atomização é outro parâmetro que afeta significativamente a resposta recuperação de Pb, pois é na temperatura de atomização que o analito é vaporizado e atomizado. Se a temperatura de atomização empregada é maior que a temperatura necessária para o analito atomizar, no processo de atomização pode estar ocorrendo perda do analito antes da etapa de quantificação, além de exercer um desgaste desnecessário do tubo de grafite. Por outro lado, se a temperatura de atomização empregada for menor que a temperatura necessária para atomizar o analito, ocorrerá uma perda de sinal analítico, acarretando em perda de sensibilidade.

Como os efeitos estimados padronizados para o parâmetro modificador químico não foi significativo, empregou-se a quantidade mínima estudada ( $5 \mu\text{g}$  de Pd e  $3 \mu\text{g}$  para Mg).

Na sequência para encontrar as condições ótimas de temperaturas de pirólise e atomização (refino do planejamento anterior) aplicou-se um Planejamento

Composto Central (Planejamento em Estrela), as variáveis analisadas e os valores de recuperação de Pb (%) obtidos para cada condição estão listadas na TABELA 15.

TABELA 15 - AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS INSTRUMENTAIS PARA a DETERMINAÇÃO DE Pb NO FLUIDO PULMONAR ALF POR GF AAS APLICANDO-SE O PLANEJAMENTO COMPOSTO CENTRAL (CCD).

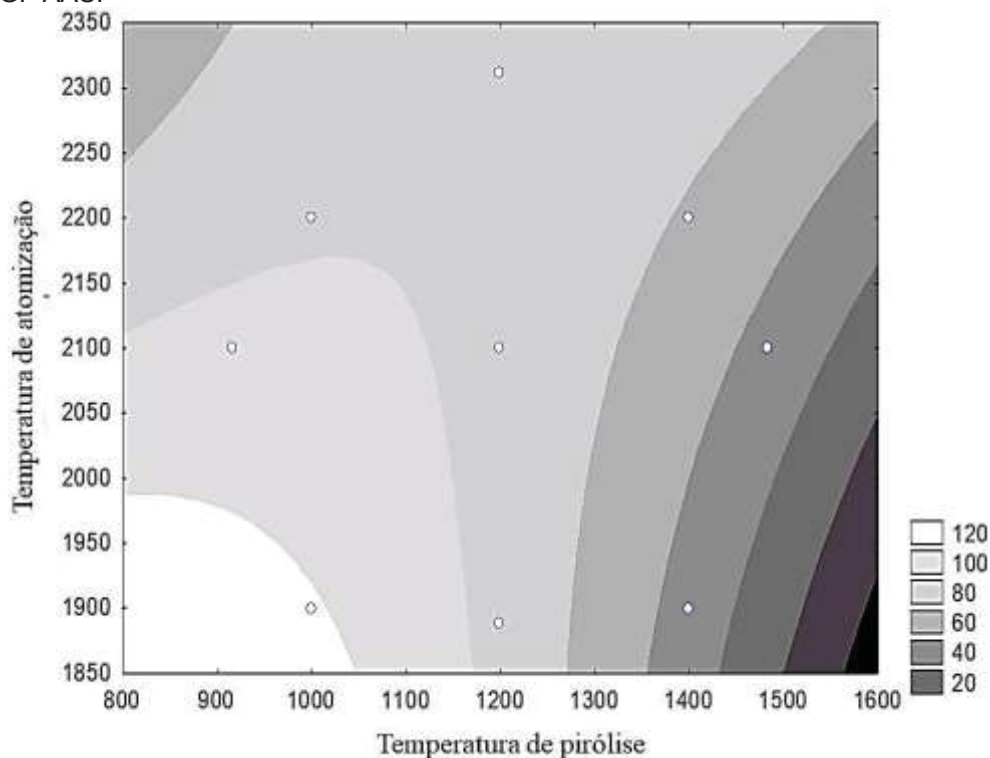
Experimento	Pirólise		Atomização		Rec (%)
	(°C)	Normalizado	(°C)	Normalizado	
1	1000	-1	1900	-1	112
2	1000	-1	2200	+1	99
3	1400	+1	1900	-1	21
4	1400	+1	2200	+1	36
5	900	$-\sqrt{2}$	2100	0	63
6	1480	$+\sqrt{2}$	2100	0	57
7	1200	0	1900	$-\sqrt{2}$	75
8	1200	0	2300	$+\sqrt{2}$	77
9	1200	0	2100	0	66
10	1200	0	2100	0	74
11	1200	0	2100	0	82

FONTE: A autora.

Com esse tipo de planejamento, foram realizados 11 experimentos, sendo 3 desses no ponto central utilizando a quantidade de modificadores químicos definidos anteriormente, isto é, 5 µg Pd: 3 µg Mg. O efeito das variáveis estudadas bem como suas possíveis interações foram avaliadas por meio dos valores obtidos para a recuperação de Pb (%).

Por meio desse tipo de planejamento, a construção de gráficos de contorno de resposta (FIGURA 15) obtidos a partir de equação matemática para modelos quadráticos (PEREIRA-FILHO, 2015), foi possível avaliar a região onde a recuperação de Pb esteve mais próxima de 100%. A condição ótima instrumental pelas condições de temperatura  $T_p = 1150\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $T_a = 2000\text{ }^{\circ}\text{C}$ , mostrou valores de recuperação para o Pb, na matriz de análise, em torno de 100%.

FIGURA 15 - GRÁFICO DE CONTOURNO 2D PARA OS VALORES DE RECUPERAÇÃO (%) DE Pb NA MATRIZ ALF, PELA VARIAÇÃO DAS TEMPERATURAS DE PIROLÍSE (°C) E ATOMIZAÇÃO (°C) NO GF AAS.



FONTE: A autora.

#### 4.2.5 Figuras de Mérito

A exatidão dos métodos desenvolvidos para a determinação de Cu, Cr, Mn e Pb foi avaliada por experimentos de adição e recuperação da solução padrão dos elementos no fluido pulmonar ALF em comparação com a curva analítica dos elementos em meio aquoso. Na TABELA 16 podem ser observados os valores de recuperação para diferentes níveis de concentração dos elementos dentro da faixa linear obtida das curvas analíticas de calibração.

Os valores de precisão pelo desvio padrão relativo (RSD%) em todos os experimentos foram satisfatórios de recuperação (80% - 120%) (COMMISSION, 2002; INMETRO, 2018), e os valores de repetibilidade estavam dentro dos limites aceitáveis (RSD <10%), indicando boa precisão dos métodos desenvolvidos.

Esses resultados indicam que a aplicação da curva de calibração em meio aquoso ( $\text{HNO}_3$  1% v v<sup>-1</sup>) nas condições otimizadas permite quantificação satisfatória dos elementos no fluido pulmonar ALF com reduzido efeito de matriz. A aplicação

das curvas externas de calibração foi possível devido ao estudo detalhado dos parâmetros instrumentais do GF AAS, gerando métodos mais simples e robustos.

TABELA 16 - VALORES DE ADIÇÃO E RECUPERAÇÃO PARA OS ELEMENTOS Cu, Cr, Mn E Pb NO FLUIDO PULMONAR ALF OBTIDOS EM CURVA ANALÍTICA DE MEIO AQUOSO COM A TÉCNICA GF AAS

	Nível de concentração de adição ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Valor de concentração encontrado ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	RSD (%)	Rec (%)
<b>Cu</b>	2	$1,9 \pm 0,01$	0,70	95
	10	$11 \pm 0,07$	0,63	109
	20	$18 \pm 1,4$	7,8	91
	50	$52 \pm 0,34$	0,64	104
	80	$78 \pm 3,5$	4,5	97
<b>Cr</b>	4	$4,7 \pm 0,26$	5,6	118
	10	$11 \pm 0,38$	3,4	110
	25	$25 \pm 1,1$	4,2	101
<b>Mn</b>	2	$1,7 \pm 0,22$	13	84
	10	$10 \pm 0,01$	0,05	104
	25	$23 \pm 0,22$	0,96	93
	35	$34 \pm 0,49$	1,4	98
<b>Pb</b>	10	$8,2 \pm 0,10$	1,2	82
	20	$22 \pm 0,13$	0,58	108
	50	$49 \pm 0,51$	1,0	99
	100	$93 \pm 2,0$	2,1	93

FONTE: A autora.

Os parâmetros analíticos LOD, LOQ, e coeficiente de determinação ( $R^2$ ) também foram avaliados para os métodos desenvolvidos conforme apresentado na TABELA 17. Para este estudo foram construídas duas curvas analíticas para o Cu, Mn e Pb devido ao grande intervalo de concentração desses elementos nas amostras analisadas, conforme esperado pela análise de concentração total pela técnica EDXRF e como observado em estudos anteriores (BARBOSA, 2014; POLEZER, 2015). Para os elementos analisados, as curvas analíticas de calibração apresentaram valores de  $R^2 \geq 0,995$ .

O método desenvolvido permitiu a quantificação dos analitos solubilizados no fluido pulmonar artificial ALF sem a necessidade de tratamento prévio das amostras, com redução do tempo de procedimentos analíticos, redução de reagentes e custos, além da diminuição do erro sistemático por eliminação da etapa

de preparação da amostra. As medidas analíticas foram obtidas a partir de curvas analíticas em meio ácido, o que torna o método mais simples, robusto e rápido, aumentando a frequência de análises químicas.

TABELA 17 - PARÂMETROS ANALÍTICOS DOS MÉTODOS DESENVOLVIDOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE Cu, Mn, Pb E Cr NO FLUIDO PULMONAR SIMULADO POR MEIO DA TÉCNICA GF AAS

		Faixa linear ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	$R^2$	LOD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOQ ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
<b>Cu</b>	$y = 0,0173x + 0,0017$	2-30	0,996	0,44	1,5
	$y = 0,0081x + 0,2778$	30-100	0,998		
<b>Mn</b>	$y = 0,0267x + 0,0447$	2-15	0,999	0,34	1,2
	$y = 0,0063x + 0,3453$	15-35	0,994		
<b>Pb</b>	$y = 0,0028x + 0,0212$	10-70	0,994	2,9	9,8
	$y = 0,0018x + 0,0868$	70-200	0,995		
<b>Cr</b>	$y = 0,0124x + 0,0039$	4-25	0,996	0,92	3,1

FONTE: A autora.

As condições analíticas empregadas no método proposto foram obtidas a partir de um cuidadoso estudo dos parâmetros instrumentais e da razão entre o sinal do analito e do sinal de fundo, levando em consideração a matriz ALF. A partir deste estudo, foi possível quantificar o teor de elementos contidos em aerossóis atmosféricos utilizando a técnica GF AAS com lâmpada de deutério como corretor de fundo com adequada sensibilidade e precisão.

Os resultados obtidos indicam que os métodos desenvolvidos podem ser empregados em análises de rotina em laboratórios para a avaliação da fração solúvel dos compostos do  $\text{MP}_{2,5}$  no fluido pulmonar artificial ALF de diversas fontes de emissão, permitindo uma avaliação detalhada da qualidade do ar utilizando-se um equipamento modesto. Dessa forma, comprovou-se que é possível desenvolver métodos analíticos com sensibilidade e precisão adequadas, necessárias quando comparadas às técnicas analíticas modernas atuais. A partir do objetivo do estudo, os elementos inorgânicos foram quantificados em níveis traço em uma matriz complexa, permitindo sua quantificação e monitoramento por um método robusto desenvolvido no equipamento GF AAS, simples e mais acessível, sendo uma alternativa para laboratórios que não possuem equipamentos analíticos mais caros e modernos.

#### 4.3 INFLUÊNCIA DAS CARACTERÍSTICAS GEOGRÁFICAS E SOCIOECONÔMICAS DE MANAUS E CURITIBA SOBRE AS EMISSÕES DE MP<sub>2,5</sub>

Situando-se a 33 metros acima do nível do mar, o clima de Manaus é tropical com temperatura média histórica de 27°C, temperatura média mensal máxima e mínima de 28°C e 27°C respectivamente (INMET, 2016). O índice pluviométrico anual médio acumulado é de 2.145 mm, e as estações do ano são geralmente divididas em seca e chuvosa, com a menor precipitação média mensal de 56 mm em agosto. A direção preferencial do vento é de nordeste.

Curitiba está situada a 924 metros acima do nível do mar, a 50 km do litoral e atrás de uma cadeia de montanhas de até 1800 m. O clima de Curitiba é subtropical com grande amplitude térmica diária, e as quatro estações do ano mais bem definidas em relação a maioria das cidades brasileiras. A temperatura média histórica é de 17°C, e a média mensal máxima e mínima é 23°C e 12°C respectivamente. A precipitação anual média acumulada da série histórica é de 1483 mm e a direção preferencial do vento é de nordeste (INMET, 2016).

Além da diferença entre características geográficas e climatológicas, Manaus e Curitiba possuem diferentes características econômicas e sociais que estão resumidas na TABELA 18.

A primeira diferença é que a cidade de Curitiba está rodeada por várias cidades de médio e pequeno porte. A Região Metropolitana de Curitiba (RMC) é composta por 29 cidades, e o núcleo urbano central por 13 cidades ao redor de Curitiba. As atividades antropogênicas das cidades da RMC podem contribuir com o MP<sub>2,5</sub> na cidade de Curitiba, em função de variáveis meteorológicas (como direção e velocidade do vento) que poderiam favorecer o transporte desse poluente desde o local de emissão até Curitiba.

A população de quase 2 milhões de habitantes e a área de Curitiba de 435 km<sup>2</sup> são comparáveis a população de pouco mais de 2 milhões de habitantes de Manaus e área urbana de 377 km<sup>2</sup>. Contudo, a RMC tem uma área de quase 16 mil km<sup>2</sup> e população de 3,6 milhões de habitantes, ambos maiores que área e população de Manaus (IBGE, 2016).



TABELA 18 - ASPECTOS ECONÔMICOS E SOCIAIS DE CURITIBA, REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA (RMC) E MANAUS

	Curitiba	RMC	Manaus
Área <sup>a</sup> (km <sup>2</sup> )	435	15 913	11 400 (urbana+ rural) / 377 (urbana)
População (milhões) <sup>a</sup>	1,9 (2017)	3,6 (2017)	2,1 (2017)
Veículos (milhões) <sup>b</sup>	1,5 (2016) 69% carros / 9% motos / 7% caminhões	2,2(2016)	0,67 (2016) 52% carros / 23% motos / 11% caminhões
Transporte de mercadorias	rodoviário / férreo / aéreo		aquaviário / aéreo
Hidrelétricas <sup>c</sup>	>99%		<15%
Termelétricas <sup>c</sup>	14 MW / 580 MW (RMC)		1 500 MW
Industria	Cidade industrial de Curitiba: 27 industrias		ZFM: 487 industrias (2015)/690 industrias (2005)
Produto interno bruto (PIB) <sup>d</sup>	67% serviços 22% industria 10% administração/educação		44% serviços 43% industria 13% administração/educação

FONTE: A autora.

LEGENDA: a: (IBGE, 2016), b: (DENATRAM, 2005), c: (ANEEL, 2014), d: (IBGE, 2015)

As características específicas das cidades de Manaus e Curitiba como a localização geográfica e os modelos de desenvolvimento urbano, levaram a diferentes estruturas econômicas das mesmas.

Por exemplo, como já mencionado anteriormente, a cidade de Manaus recebeu incentivos governamentais em 1957 para aumentar o desenvolvimento da região com a criação de uma grande zona industrial de livre comércio, baseada em incentivos fiscais e extrafiscais, a Zona Franca de Manaus (ZFM) ((SUFRAMA, 2018)). A criação da ZFM deu-se sem o necessário planejamento urbano e sem a criação de restrições de poluição do ar para acompanhar o grande crescimento urbano que se veria nos próximos anos, devido a demanda gerada por terra, energia e transporte (ABOU RAFEE et al., 2017). Devido a distância de Manaus às regiões onde estão localizadas usinas hidrelétricas no Brasil, e devido a demanda energética gerada pela criação da ZFM, foram construídas usinas termelétricas para solucionar esse problema.

Dessa forma, um importante contribuinte para as emissões em Manaus é a geração de energia. As usinas termelétricas (UTE) movidas a diesel (28%) e gás

natural (72%) geram a maior parte do suprimento de eletricidade em Manaus (ANEEL, 2014; MEDEIROS et al., 2017), com uma oferta 100 vezes maior de potência do que em Curitiba, as UTE estão localizadas em Manaus ao redor de toda a cidade (FIGURA 17B). Em Curitiba, por outro lado, quase toda a energia é suprida por usinas hidrelétricas (> 99%), que no entanto apesar de trazerem diversos impactos ambientais, não se localizam na cidade de Curitiba (ANEEL, 2014). Portanto, espera-se que as emissões dessa fonte sejam maiores em Manaus e tenham uma composição diferente da de Curitiba.

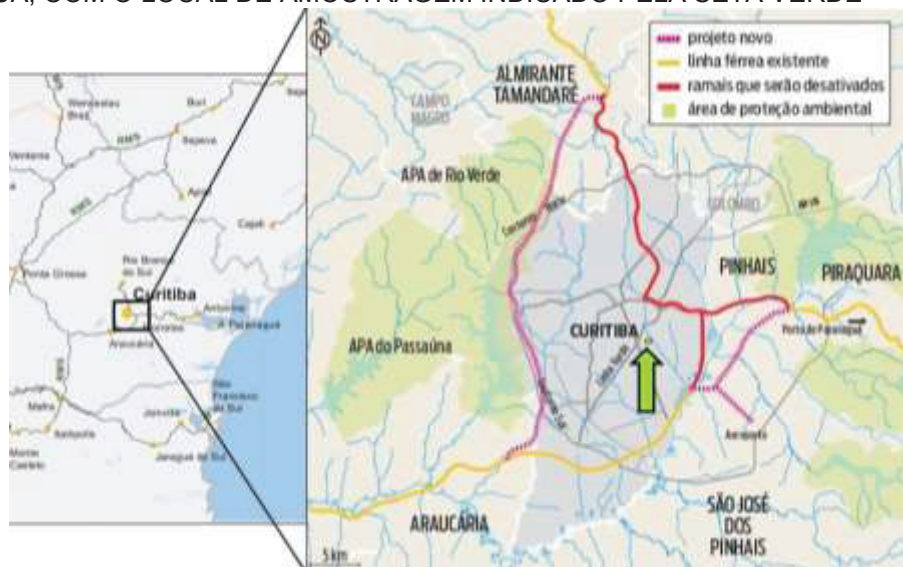
A frota de veículos de Curitiba e da RMC são respectivamente duas e três vezes maiores que a frota de Manaus (DENATRAM, 2005). Além do transporte por veículos registrados nas duas cidades estudadas, o transporte de cargas em Curitiba, transportando em grande parte produtos de agricultura em direção ao porto de Paranaguá, ocorre principalmente por via rodoviária (principalmente por meio de veículos pesados, ex. caminhões) (POLEZER et al., 2018) e, em menor extensão por via-férrea e aérea. Dessa forma, uma parte importante das emissões atmosféricas está relacionada ao transporte em Curitiba principalmente pelo maior número de fontes veiculares.

Em Curitiba, apesar da contribuição do transporte ferroviário ser menor que o transporte rodoviário, existe na proximidade do local de amostragem duas vias férreas, uma a 1 Km de distância saindo de Rio Branco do Sul, e outra a aproximadamente 3 Km de distância com início em diversas localidades no interior do Paraná, as duas linhas terminam no porto de Paranaguá (INFRASTRUTURA, 2017).

A FIGURA 16 é o mapa ferroviário no entorno da cidade de Curitiba e do porto de Paranaguá, onde podem ser identificados o local de amostragem pela seta verde, e as duas linhas férreas que passam pela cidade de Curitiba, que podem estar contribuindo para emissão dos elementos analisados.

Por outro lado, o transporte fluvial é o principal meio de transporte de cargas em Manaus, sendo que o porto de Manaus é conhecido como o maior porto flutuante do mundo (WARD, 2015).

FIGURA 16 - MAPA FERROVIÁRIO NA REGIÃO DA CIDADE DE CURITIBA E O PORTO DE PARANAGUÁ, COM O LOCAL DE AMOSTRAGEM INDICADO PELA SETA VERDE



FONTE: (LOPES, 2009; INFRASTRUTURA, 2017)

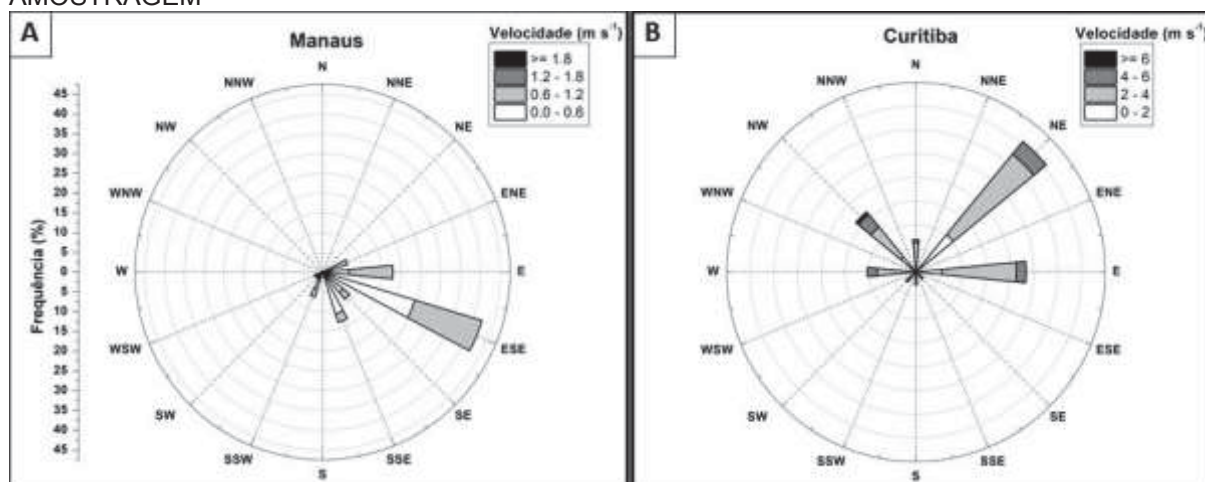
A Zona Franca de Manaus está localizada principalmente no lado leste e sudeste do centro da cidade de Manaus (FIGURA 17A), apesar da direção predominante dos ventos em Manaus ser de nordeste, no período de amostragem observou-se que a direção predominante dos ventos foi de sudeste para noroeste como pode ser observado na rosa dos ventos do período de amostragem na FIGURA 18A. Ou seja, a direção preferencial dos ventos no período de amostragem foi da região industrial para o centro da cidade. No entanto, algumas indústrias também estão instaladas na área norte da cidade. Uma grande parte das quase 500 indústrias encontradas na ZFM consiste principalmente de fabricantes de bens de transporte (motocicletas) e de tecnologia de comunicação (SUFRAMA, 2018). Espera-se que todas essas indústrias contribuam para a composição do MP de Manaus (WHO, 1998; 2004; ATSDR, 2007; WHO, 2009; 2013; MBENGUE, ALLEMAN e FLAMENT, 2015; LI et al., 2016).

FIGURA 17 – A) LOCAL DE AMOSTRAGEM (VERMELHO), REGIÃO INDUSTRIAL (AMARELO) B) USINAS TERMELETRICAS (LARANJA) EM MANAUS



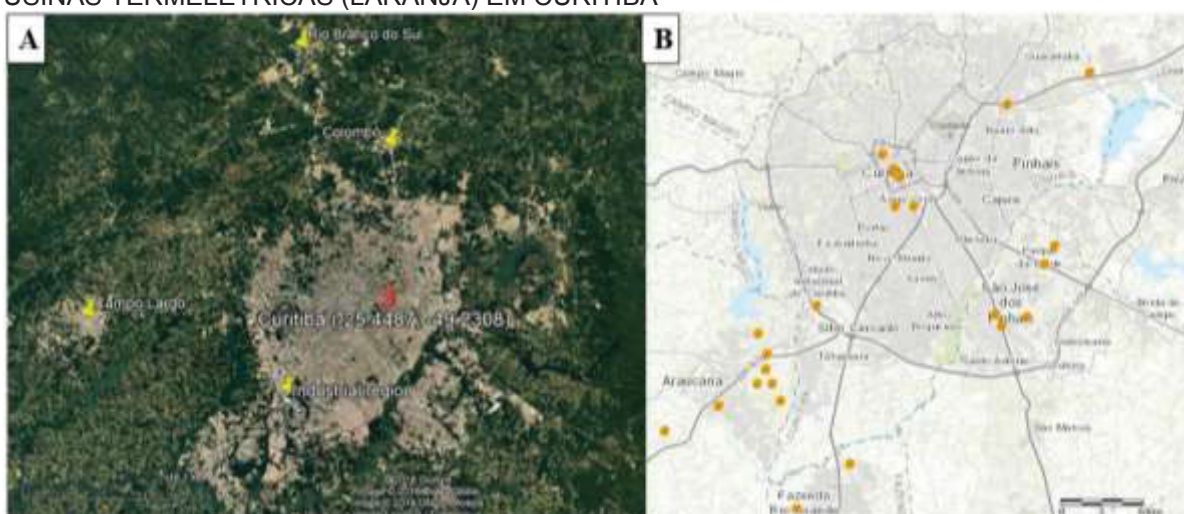
FONTE: A) Google Earth Pro (Map data©2019) B) (ANEEL, 2014).

FIGURA 18 - ROSA DOS VENTOS DE MANAUS (A) E CURITIBA (B) PARA OS PERÍODOS DE AMOSTRAGEM



FONTE: A autora.

FIGURA 19 – A) LOCAL DE AMOSTRAGEM (VERMELHO), REGIÃO INDUSTRIAL (AMARELO) B) USINAS TERMELETRICAS (LARANJA) EM CURITIBA



FONTE: A) Google Earth Pro (Map data©2019) B) (ANEEL, 2014).



As 27 indústrias localizadas na Cidade industrial de Curitiba (CIC) são principalmente fabricantes de automóveis e indústrias de alta tecnologia (ZHANG, 2016; AECIC., 2018) e uma indústria petroquímica (GODOI et al., 2013). A CIC esta localizada a sudoeste de Curitiba (FIGURA 19A), e os ventos predominantes no período de amostragem foram de nordeste para sudoeste, ou seja do centro da cidade paraa região da cidade industrial, como pode ser observada na rosa-dos-ventos descrevendo a direção predominante do vento durante o período de amostragem na FIGURA 18B.

Embora espere-se uma pequena contribuição da CIC, devido tanto ao tipo de indústrias instaladas (alta tecnologia) quanto a direção preferencial do vento na região (nordeste-leste) para a massa do MP em Curitiba, pode haver uma contribuição substancial das indústrias da RMC. As cidades Colombo e Rio Branco do Sul estão localizadas a noroeste, e Campo Largo a oeste, com uma pequena contribuição dos ventos preferenciais em direção a cidade de Curitiba (FIGURA 19A e FIGURA 18A). Nas indústrias da região noroeste encontram-se indústrias de calcário com o uso de fornos de incineração. Tais fornos usam principalmente carvão para geração de calor, e até recentemente não havia quase nenhuma tecnologia de controle das emissões. Além disso, em Rio Branco do Sul esta situada a maior indústria de cimento do estado do Paraná (80% da produção) (MINEROPAR, 2018), e em Campo Largo existem fábricas para produção de porcelana com uso de fornos.

O Produto Interno Bruto (PIB) de Manaus baseia-se, similarmente, na contribuição dos serviços (44%) e indústria (43%) (IBGE, 2015), devido ao grande incentivo dado a abertura de indústrias na ZFM. Enquanto em Curitiba os serviços são a maior fonte do PIB (67%), seguido da menor contribuição da indústria. (22%), (IBGE, 2015).

Por fim, apesar das queimadas da floresta Amazônica ao redor de Manaus serem uma fonte importante de  $MP_{2,5}$ , os principais elementos associados a queima de biomassa são S, K e Cl, e geralmente pouca contibuição pode ser encontrada dos elementos Cu, Cr, Pb e Mn (BARBOSA, 2014).

#### 4.4 CONCENTRAÇÃO ATMOSFÉRICA TOTAL E SOLÚVEL DE Cu, Cr, Mn e Pb NAS AMOSTRAS DE MP<sub>2,5</sub>

As amostras de MP<sub>2,5</sub> obtidas em Manaus e Curitiba foram submetidas a análise de concentração total elementar pela técnica EDXRF, e após o teste *in vitro* a concentração elementar solubilizada em cada amostra foi obtida pela técnica GF AAS. Obteve-se a concentração atmosférica dos elementos químicos analisados dividindo os resultados de quantidade mássica pelo volume de ar amostrado em metros cúbicos (m<sup>3</sup>).

A concentração média do MP<sub>2,5</sub> (µg m<sup>-3</sup>) e dos elementos (ng m<sup>-3</sup>), desvio padrão do conjunto de amostras analisadas, e a incerteza das medidas para cada cidade estão apresentados na TABELA 19.

As concentrações médias de MP<sub>2,5</sub> observadas nas amostras obtidas neste estudo são similares entre as duas cidades estudadas, e tais valores estão próximos dos níveis de concentração encontrados em estudos anteriores tanto em Curitiba com concentração média de 9,7 µg m<sup>-3</sup> ± 6,6 µg m<sup>-3</sup> (POLEZER et al., 2018), quanto em Manaus com concentração média de 8,8 µg m<sup>-3</sup> ± 7,5 µg m<sup>-3</sup> na estação chuvosa e 11,6 µg m<sup>-3</sup> ± 7,8 µg m<sup>-3</sup> na estação seca (BARBOSA, 2014). Dessa forma, poderia-se acreditar que o nível de poluição atmosférica em ambas as cidades seria similar, bem como os efeitos na saúde das populações.

Contudo, as concentrações de Cu, Cr, Pb e Mn no MP<sub>2,5</sub> em Curitiba estão abaixo dos valores encontrados em Manaus, em torno de 50% do valor no caso do Cu e Cr, e 25% do valor no caso do Mn. Os níveis de concentração em Curitiba seguiram a ordem Pb > Mn > Cu > Cr, enquanto em Manaus foi Mn > Pb > Cu > Cr. Os níveis de Mn em Manaus foram os mais elevados dentre todos os elementos avaliados (20 ng m<sup>-3</sup>), e o Cr em Curitiba foi o valor menor entre os analisados (1,7 ng m<sup>-3</sup>).

Existe variação nas concentrações atmosféricas dos elementos contidos nas amostras de MP<sub>2,5</sub>, como já observado em outros estudos realizados nas mesmas cidades (BARBOSA, 2014; POLEZER et al., 2018), e em outros locais (ANDRADE et al., 2012). A variação da concentração tanto dos elementos quanto a variação mássica do MP<sub>2,5</sub> acontece devido a influência das condições meteorológicas e da variação das fontes. Por exemplo, apesar das fontes automotivas serem

consideradas constantes, em dias de fim-de-semana, feriados, férias, existe uma redução na quantidade de veículos na cidade e possivelmente rotas de tráfego, afetando consequentemente a concentração e composição dos poluentes atmosféricos.

TABELA 19 – MÉDIA DESVIO PADRÃO (D.P.) E INCERTEZA DAS MEDIDAS DA CONCENTRAÇÃO DE  $MP_{2,5}$  ( $\mu g m^{-3}$ ) E CONCENTRAÇÕES ATMOSFÉRICA TOTAL E SOLÚVEL (1, 24 E 48 HORAS DE INCUBAÇÃO EM FLUIDO PULMONAR SIMULADO ALF) ( $ng m^{-3}$ ) OBTIDAS PARA Cu, Mn, Cr E Pb EM AMOSTRAS DE  $MP_{2,5}$  COLETADAS EM MANAUS E CURITIBA

Concentração atmosférica			Total	Solubilizada		
				1 h	24 h	48 h
<b><math>MP_{2,5}</math> (<math>\mu g m^{-3}</math>)</b>	<b>Curitiba</b>	Média	<b>9,2</b>			
		D. P.	3,9			
	<b>Manaus</b>	Média	<b>9,2</b>			
		D. P.	3,5			
<b>Cobre (<math>ng m^{-3}</math>)</b>	<b>Curitiba (n= 24)</b>	Média	<b>2,2</b>	1,1	1,3	1,4
		D. P.	0,90	0,35	0,42	0,46
		Incerteza	0,04	0,01	0,01	0,01
	<b>Manaus (n= 15)</b>	Média	<b>11</b>	2,3	2,4	2,8
		D. P.	7,3	2,2	1,9	2,4
		Incerteza	0,22	0,02	0,02	0,01
<b>Manganês (<math>ng m^{-3}</math>)</b>	<b>Curitiba (n= 23)</b>	Média	<b>4,3</b>	0,64	0,70	0,70
		D. P.	1,1	0,11	0,10	0,11
		Incerteza	0,02	0,01	0,01	0,01
	<b>Manaus (n= 11)</b>	Média	<b>20</b>	2,5	2,2	2,4
		D. P.	14	1,9	1,8	1,8
		Incerteza	0,15	0,05	0,06	0,04
<b>Crômio (<math>ng m^{-3}</math>)</b>	<b>Curitiba (n=5)</b>	Média	<b>1,7</b>	0,36	0,43	0,45
		D. P.	1,2	0,22	0,31	0,32
		Incerteza	0,05	0,01	0,02	0,02
	<b>Manaus (n= 4)</b>	Média	<b>3,2</b>	1,3	1,3	1,5
		D. P.	2,9	1,0	1,0	1,1
		Incerteza	0,22	0,04	0,05	0,07
<b>Chumbo (<math>ng m^{-3}</math>)</b>	<b>Curitiba (n=21)</b>	Média	<b>8,0</b>	4,5	4,7	4,7
		D. P.	8,6	4,3	4,8	4,9
		Incerteza	0,13	0,02	0,03	0,05
	<b>Manaus (n=7)</b>	Média	<b>12</b>	8,5	7,9	8,3
		D. P.	9,9	6,5	6,1	6,5
		Incerteza	0,55	0,13	0,23	0,14

FONTE: A autora.



Usmani e Kumar (2017) relataram uma ordem semelhante para as concentrações elementares (Mn > Cu > Pb > Cr) das emissões de cinzas volantes de 5 usinas termelétrica na Índia. Usmani e Kumar (2017) também encontraram níveis de Mn muito mais elevados que os demais elementos e atribuíram isso às emissões de combustão da usina de geração de energia. Outros estudos na literatura mostraram que as emissões de usinas termelétricas são uma fonte significativa de Mn, Cu, Cr (JULIEN et al., 2011; USMANI e KUMAR, 2017) e Pb (TWINING et al., 2005; ATSDR, 2007; JULIEN et al., 2011; LI et al., 2016; USMANI e KUMAR, 2017). Perfis e níveis de emissão semelhantes foram relatados em três usinas termelétricas no Brasil (FLUES et al., 2013).

As emissões fluviais são consideradas uma importante fonte de poluição e contribuem em parte para a carga de MP em Manaus, no entanto, Cu, Cr, Mn e Pb foram encontrados como não significativos nas emissões de navios (LI et al., 2018a; WEN et al., 2018). Dado que as emissões de transporte fluvial não contribuem significativamente para os níveis observados dos elementos analisados, estes resultados sugerem que a principal fonte para estes quatro elementos químicos em Manaus é devido às emissões de UTE, como indicado anteriormente no item 4.3.

Por outro lado, para Curitiba, o transporte de veículos e as emissões industriais regionais (especialmente a combustão do carvão) poderiam ser os principais contribuintes, como já foi elucidado previamente. Sabe-se que as emissões de transporte rodoviário contêm os metais investigados neste estudo, Cu e Pb de escape de combustão (JULIEN et al., 2011), Cu da ressuspensão de asfalto e concreto de superfícies de estrada (MIDANDER, WALLINDER e LEYGRAF, 2007), Cr e Pb de tinta de sinalização de estrada (SYSALOVÁ et al., 2012; WISEMAN e ZEREINI, 2014), emissões de Pb devido ao legado da gasolina com chumbo (WISEMAN e ZEREINI, 2014), Cu de pneus de borracha e lonas de freio (MIDANDER, WALLINDER e LEYGRAF, 2007) (WISEMAN e ZEREINI, 2014; KHAN et al., 2016) e Pb do desgaste do veículo (WISEMAN e ZEREINI, 2014; KHAN et al., 2016). As indústrias de produção de calcário e cimento da RMC possivelmente contribuem para a composição elementar de MP<sub>2,5</sub> devido à combustão de carvão nos fornos de incineração de calcário (AVIGO et al., 2008; GODOI et al., 2008), combustível fóssil, pneus e resíduos industriais nos fornos de cimento, todos

fornecendo fontes para Mn, Cu, Pb e Cr (WHO, 2004; TWINING et al., 2005; ATSDR, 2007; JULIEN et al., 2011; USMANI e KUMAR, 2017).

A TABELA 20 apresenta um resumo de trabalhos recentes na literatura sobre elementos contidos no MP<sub>2,5</sub>. Os trabalhos listados estão ordenados pela concentração média dos elementos avaliados do maior para o menor, e o presente estudo está destacado em negrito.

TABELA 20 - CONCENTRAÇÕES (CONC) E FONTES DE Cu, Cr, Pb E Mn EM MP<sub>2,5</sub> COLETADAS EM DIFERENTES CIDADES RELATADAS EM LITERATURA ABERTA E COMPARADAS AO PRESENTE ESTUDO (continua)

Local	Cu (ng m <sup>-3</sup> )		Cr (ng m <sup>-3</sup> )		Pb (ng m <sup>-3</sup> )		Mn (ng m <sup>-3</sup> )		MP <sub>2,5</sub>
	Conc	Fonte	Conc	Fonte	Conc	Fonte	Conc	Fonte	
Algeria, Algiers	4600	Poeira da rua/ escape de veículos/ crustal/ rochas ricas em Fe	55	Poeira da rua/ escape de veículos/ crustal/ rochas ricas em Fe	290	Combustão óleo/ poeira de rua/ escape de veículos (gasolina com Pb)	5100	Poeira da rua/ escape de veículos/ crustal/ rochas ricas em Fe	(TALBI et al., 2018)
			750	Solo/ Poeira da rua	25	em Fe	450		
Agra, Índia	190	Desgaste de freios/ indústrias	309	Indústrias de Fe/ queima de combustível	320	Solo/ combustão de biomassa e carvão	58	Solo/ Indústrias de Fe/ queima de combustível	(AGARWAL et al., 2017)
Residencial	-	-	-	-	88	Metalurgica	-	-	(LI et al., 2016)
Nanjing, China	-	-	-	-	49	UTE	-	-	
	104	-	21	-	158		71	-	(HU et al., 2012)

TABELA 20 - CONCENTRAÇÕES (CONC) E FONTES DE Cu, Cr, Pb E Mn EM MP<sub>2,5</sub> COLETADAS EM DIFERENTES CIDADES RELATADAS EM LITERATURA ABERTA E COMPARADAS AO PRESENTE ESTUDO  
(continuação)

Local	Cu (ng m <sup>-3</sup> )		Cr (ng m <sup>-3</sup> )		Pb (ng m <sup>-3</sup> )		Mn (ng m <sup>-3</sup> )		MP <sub>2,5</sub>	
	Conc	Fonte	Conc	Fonte	Conc	Fonte	Conc	Fonte	Fonte	Ref.
Shanghai, China	50		25		50		50			
	100	Queima de combustível/ Desgaste de freios	50	Fundição de aço	150	Combustão de carvão/ indústria metalúrgica	50	Fundição de aço/ aditivos em combustível		(HUANG et al., 2018)
	150		50		300		100			
Industrial										
Shanghai, China	-	-	-	-	90	Tráfego/ queima óleo	55	Tráfego/ queima de óleo		(LUO et al., 2019)
	-	-	-	-	150	Tráfego	70	Tráfego		
Nanjing, China										

TABELA 20 - CONCENTRAÇÕES (CONC) E FONTES DE Cu, Cr, Pb E Mn EM MP<sub>2,5</sub> COLETADAS EM DIFERENTES CIDADES RELATADAS EM LITERATURA ABERTA E COMPARADAS AO PRESENTE ESTUDO  
(continuação)

Local	Cu (ng m <sup>-3</sup> )		Cr (ng m <sup>-3</sup> )		Pb (ng m <sup>-3</sup> )		Mn (ng m <sup>-3</sup> )		MP <sub>2,5</sub>	
	Conc	Fonte	Conc	Fonte	Conc	Fonte	Conc	Fonte	Fonte	Ref.
Guangzhou, China	-	-	-	-	100	Tráfego	30	Queima de carvão/ indústrias		(LUO et al., 2019)
Curitiba, Brazil	2,2	Tráfego/ queima de combustível	1,7	Tráfego/ produção cimento	8,0	Tráfego/ queima de combustível	4,3	Queima de combustível		Estudo atual
Manaus, Brazil	11	UTE/ tráfego/ indústrias	3,2	UTE	12	UTE/ tráfego/ indústrias	20	UTE/ indústrias		Estudo atual
Monterey, Mexico	523	Veicular	3,8	Veicular	28	Veicular	30	Veicular	Veicular	(GONZÁ LEZ et al., 2017)

TABELA 20 - CONCENTRAÇÕES (CONC) E FONTES DE Cu, Cr, Pb E Mn EM MP2,5 COLETADAS EM DIFERENTES CIDADES RELATADAS EM LITERATURA ABERTA E COMPARADAS AO PRESENTE ESTUDO (conclusão)

Local	Cu (ng m <sup>-3</sup> )		Cr (ng m <sup>-3</sup> )		Pb (ng m <sup>-3</sup> )		Mn (ng m <sup>-3</sup> )		MP <sub>2,5</sub>	
	Conc	Fonte	Conc	Fonte	Conc	Fonte	Conc	Fonte	Fonte	Ref.
Frankfurt, Germany	53	-	9,7	-	13	-	19	-	Tráfego	(WISEMA N e ZEREINI, 2014)
Córdoba, Argentina	7	-	7,9	-	8,6	-	4,4	Poeira do solo		(LANZAC O et al., 2017)
Lecce, Italy	4,4	-	-	-	5,5	-	4,9	-	Regional	(CESARI et al., 2018)
Area suburbana										

Talbi et al. (2018) relataram as concentrações de elementos contidos no  $MP_{2,5}$  em Argel na Argélia, uma cidade costeira do Mediterrâneo com 3,5 milhões de habitantes (1,5 vezes mais do que as duas cidades deste estudo). As concentrações muito mais elevadas poderiam ser devido ao local específico escolhido, que é próximo de tráfego pesado, de um canteiro de obras, de uma instalação de incineração de resíduos e de uma fundição de ferro. Agarwal et al. (2017) realizaram uma investigação em Agra, na Índia, a cidade do Taj Mahal, com população semelhante a Manaus e Curitiba. Mais uma vez, este local estava perto de uma área com elevada densidade de tráfego e indústrias (fundição de metais, processamento de borracha, refinaria de petróleo, produção de vidro).

Huang et al. (2018), Hu et al. (2012) e Luo et al. (2019) investigaram os níveis de  $MP_{2,5}$  na China (Shangai, Nanjing e Guangzhou), e encontraram níveis que eram em geral mais baixos do que os relatados em Argel e Agra, mas ainda significativamente mais altos do que os níveis encontrados em Manaus e Curitiba. A presença de indústrias metalúrgicas pode ser parcialmente a razão dos níveis mais elevados observados, especialmente no caso do chumbo. Para esse fim, Li et al. (2016) mostraram que os níveis de chumbo no  $MP_{2,5}$  diminuíram em quase 50% quando as fundições metalúrgicas foram fechadas (o governo chinês fez isso em uma tentativa de melhorar a qualidade do ar na China durante os Jogos Olímpicos de 2014). Os autores concluíram que as emissões de chumbo foram devidas à combustão do carvão, que aumentaram significativamente quando as fundições metalúrgicas estavam em operação também.

Níveis de concentração dos elementos comparáveis ao presente estudo foram encontrados em Monterey (4 milhões de habitantes), México (GONZÁLEZ et al., 2017), Córdoba (1,3 milhão de habitantes), Argentina (LANZACO et al., 2017), Lecce (95.000 habitantes), Itália, (CESARI et al., 2018), e Frankfurt, Alemanha (730.000 habitantes na cidade e 2,3 milhões na região urbana; (WISEMAN e ZEREINI, 2014)). A fonte dos elementos investigados de emissões de  $MP_{2,5}$  nessas cidades foi principalmente atribuída ao tráfego, com alguma contribuição de indústrias e contribuição regional, similar ao que ocorre em Curitiba. Dessa forma, observa-se que o tamanho da população não determina isoladamente os níveis de emissão, contudo os níveis de concentração de poluição são resultado do conjunto

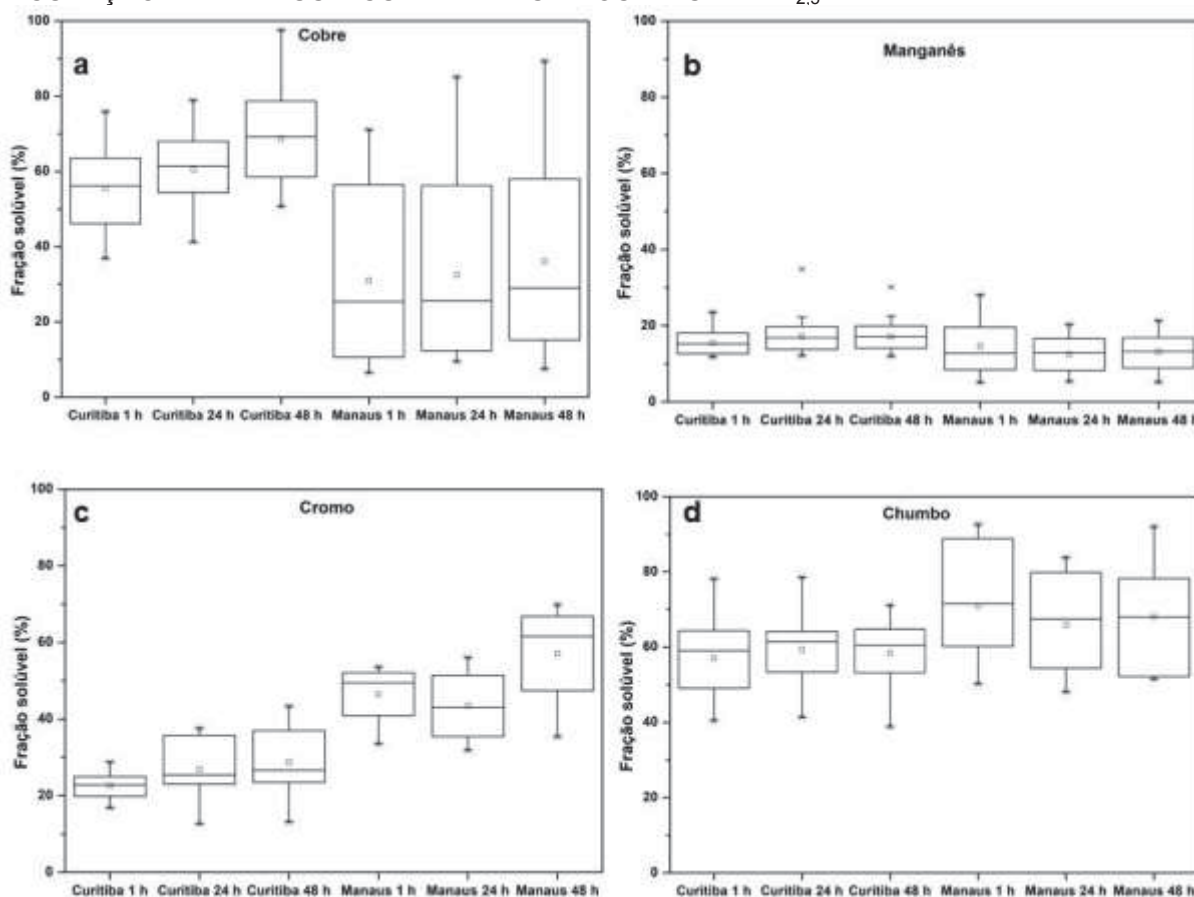


de fatores como população, tipo de atividades geradores de poluição, além de efetividade no controle e políticas de mitigação advindas do poder público.

#### 4.5 BIOACESSIBILIDADE DE Cu, Cr, Mn e Pb NAS AMOSTRAS DE MP<sub>2,5</sub>

As concentrações atmosféricas bioacessíveis no fluido pulmonar simulado ALF de Cu, Cr, Pb e Mn determinados nas amostras de MP<sub>2,5</sub> em Manaus e Curitiba estão apresentadas na TABELA 19. A bioacessibilidade foi calculada como a fração cumulativa da concentração solúvel em ALF após 1, 24 e 48 horas de incubação em relação a concentração mássica total dos elementos analisados em porcentagem. Os resultados da fração bioacessível acumulada em ALF (%) para cada tempo de incubação estão apresentados nos gráficos boxplot da FIGURA 20, onde as médias estão representadas por quadrados (□).

FIGURA 20 - GRÁFICOS BOXPLOT DA FRAÇÃO BIOACESSÍVEL ACUMULADA EM ALF (%) DE COBRE (A), MANGANÊS (B), CRÔMO (C) E CHUMBO (D) OBTIDOS POR 1, 24 E 48 HORAS DE INCUBAÇÃO EM MANAUS E CURITIBA NAS AMOSTRAS DE MP<sub>2,5</sub>



FONTE: A autora.

Os valores de bioacessibilidade encontrados nesse estudo variaram de 10 a 65%, aumentaram em geral ligeiramente ao longo do tempo de incubação, e diferiram entre as duas cidades. Como pode ser visto na FIGURA 20, o tempo de extração do procedimento *in vitro* não apresentou diferença significativa nos períodos avaliados, considerando a média e o desvio padrão de cada amostra, porém, para o cobre em Curitiba, observou-se um leve aumento da fração solúvel com o tempo, podendo ser consequência da variabilidade das amostras. A diferente solubilidade para cada elemento, entre as amostras acontece por causa da composição heterogênea, resultando em vários fatores de combinação, por exemplo, a variabilidade de emissão de fontes (hora do dia, semana/fim de semana), condições meteorológicas, entre outras.

A maior variabilidade dos resultados para Cu, Cr e Pb pode indicar a contribuição de diferentes fontes em ambas as cidades, uma vez que diferentes fontes provavelmente resultariam em diferentes especiações químicas e, portanto, também diferentes solubilidades. Em geral, a variabilidade foi maior em Manaus do que nos dados de Curitiba para todos os elementos. O elemento Cu apresentou a maior amplitude, e variou por exemplo de 7,5% a 89% (48h), enquanto o Pb variou de 51% a 92% (48h). O menor grau de amplitude entre os compostos investigados foi para o Mn, onde este variou de 12% a 30% (48h) em Curitiba, e 5,2% a 21% (48h) em Manaus, indicando uma fonte semelhante (provavelmente combustão).

A bioacessibilidade média do cobre foi aproximadamente duas vezes maior em Curitiba (56% - 1h, 60% - 24h, 69% - 48h) do que em Manaus (31% - 1h, 33% - 24h, 36% - 48h) (FIGURA 20 (A)). O único estudo encontrado de bioacessibilidade do MP<sub>2,5</sub> em ALF realizado de forma similar ao presente estudo (WISEMAN e ZEREINI, 2014), foi desenvolvido na cidade de Frankfurt, Alemanha. Wiseman e Zereini (2014) observaram valores de 80%, em 24 horas de incubação, na bioacessibilidade de Cu, mais de duas vezes maior que os valores observados em Manaus, e um pouco mais comparável ao encontrado em Curitiba. Como já discutido anteriormente, as emissões de tráfego são uma das principais fontes de Cu em Curitiba, semelhante a Frankfurt, enquanto em Manaus a principal fonte parece ser usinas termelétricas (TABELA 20). Com isso, observa-se que as emissões de Cu contido no MP<sub>2,5</sub> são mais solúveis no fluido pulmonar e, portanto, mais perigosas a saúde humana, quando emitidas de fontes veiculares.

Entre os compostos investigados, observou-se para o Mn os menores valores de bioacessibilidade (FIGURA 20 (B)), com valores médios de 15% (1h), 12% (24h), 13% (48h) em Manaus, e 15% (1h), 17% (24h), 17% (48h) em Curitiba. O processo de combustão em usinas termelétricas pode ser a principal fonte de Mn em Manaus, enquanto a queima de combustíveis fósseis em fornos para produção de cerâmica, calcário e cimento das cidades metropolitanas de Curitiba contribuem para as emissões de Mn em Curitiba (JULIEN et al., 2011; SYSALOVÁ et al., 2012; USMANI e KUMAR, 2017), ambos processos de combustão de alta temperatura. Os valores de bioacessibilidade semelhantes em Manaus e Curitiba podem ser indicativos de processos químicos e especiação química semelhantes das espécies de Mn encontradas nas amostras de  $MP_{2,5}$  em ambas as cidades. Comparando a bioacessibilidade obtida neste estudo com a encontrada no estudo realizado em Frankfurt (52% - 24 h), duas vezes maior que os valores encontrados em Manaus e Curitiba (WISEMAN e ZEREINI, 2014), fica claro que as espécies químicas do Mn entre as cidades é diferente e, portanto, poder-se-ia esperar fontes diferentes. Wiseman e Zereini (2014) indicaram que a maior fonte de Mn ( $MP_{2,5}$ ) em Frankfurt estava relacionada ao tráfego, enquanto neste estudo ela é principalmente devido a combustão na indústria.

Diferentemente, o Cr (FIGURA 20 (C)) apresentou uma fração solúvel duas vezes maior em Manaus do que em Curitiba, possivelmente como resultado de diferentes fontes de emissão e a conseqüente especiação química do Cr. A fração média de cromo solúvel foi de 23% (1 h), 27% (24 h), 29% (48 h) em Curitiba e 47% (1 h), 43% (24 h), 57% (48 h) em Manaus. O cromo hexavalente é considerado solúvel em água (BROWN et al., 2014). Além disso, o Cr (VI) se transporta mais facilmente dos pulmões para a corrente sanguínea do que o Cr (III) (WHO, 2013), podendo ser resultado de uma maior bioacessibilidade no fluido pulmonar. Processos de combustão normalmente oxidariam uma fração de Cr (III) para a forma hexavalente. Dessa forma podem ser considerados como emissores atmosféricos de Cr (VI): uma fábrica de cimento (Curitiba) e usinas termelétricas (Manaus) (POTGIETER et al., 2003; KINGSTON et al., 2005; WHO, 2009; SWIETLIK et al., 2011; WHO, 2013). Apesar dessas duas fontes de Cr (VI) serem similares (processos de combustão), semelhantemente ao Mn, os perfis de bioacessibilidade do Cr são diferentes entre Manaus e Curitiba.

Portanto, devemos considerar alguns fatores que possivelmente estejam influenciando esses resultados, como a contribuição atmosférica de Cr (III) em Curitiba, por exemplo, exaustão veicular (FERREIRA DA SILVA et al., 2010) e de tinta de sinalização de estrada (SWIETLIK et al., 2011) e 18.000 veículos motorizados por dia na rodovia BR277 (40-45% dos caminhões) (DNIT, 2015). A maior proporção de Cr (III)/Cr<sub>total</sub> em Curitiba que em Manaus pode diminuir a bioacessibilidade desse elemento em Curitiba. Outro fator a considerar é que o aumento da distância entre a fonte direta de Cr (VI) e a posição de amostragem resultaria inevitavelmente na redução do cromo hexavalente para compostos de Cr (III) (BROWN et al., 2014) por alguns elementos químicos que estejam em conjunto com o Cr no aerossol atmosférico, por exemplo: o vanádio ( $V^{2+}$ ,  $V^{3+}$ , e  $VO^{2+}$ ),  $Fe^{2+}$ ,  $HSO^{3-}$ , e  $As^{3+}$  (WHO, 2009). A distância entre a planta da indústria de cimento e o local de amostragem em Curitiba é de cerca de 30 km, enquanto em Manaus a distância entre as UTEs e o ponto de amostragem oscila de 5 a 15 km. Considerando ainda que a meia vida de redução do Cr (VI) para Cr (III) na atmosfera pode variar de 16 horas a 5 dias aproximadamente (WHO, 2009), é possível, então, que uma fração mais elevada do Cr hexavalente emitido na fábrica de cimento seja reduzido para Cr (III) em relação às UTEs em Manaus, antes de atingir o ponto de amostragem. Esta hipótese é corroborada pelos resultados obtidos por Wiseman e Zereini (2014) para a fração bioacessível do Cr em Frankfurt de 31% em 24 horas, onde o tráfego foi reportado como sendo a principal fonte de Cr (32.500 veículos motorizados por dia). Os resultados do presente estudo indicam que o Cr emitido por fontes de tráfego possui espécies de Cr de menor solubilidade, e que as emissões de Cr (VI) estão sujeitas a redução no estado de oxidação durante o transporte de longo alcance. Os resultados indicam, portanto, que as UTEs e outras indústrias em Manaus são fontes que geram as espécies mais solúveis de Cr com grande efeito na bioacessibilidade do Cr.

O Pb apresentou a fração média mais bioacessível no fluido pulmonar ALF entre os elementos químicos investigados, com valores médios maiores em Manaus de 71% (1h), 70% (24 h), 71% (48 h), que em Curitiba com valores médios de 57% (1h), 59% (24h), 58% (48h). Wiseman e Zereini (2014) relataram uma solubilidade muito maior para o Pb das amostras de MP<sub>2,5</sub> em Frankfurt (84%), e Li et al. (2016) relataram em Nanjing valores de 66%-78% (24 h) de bioacessibilidade para as

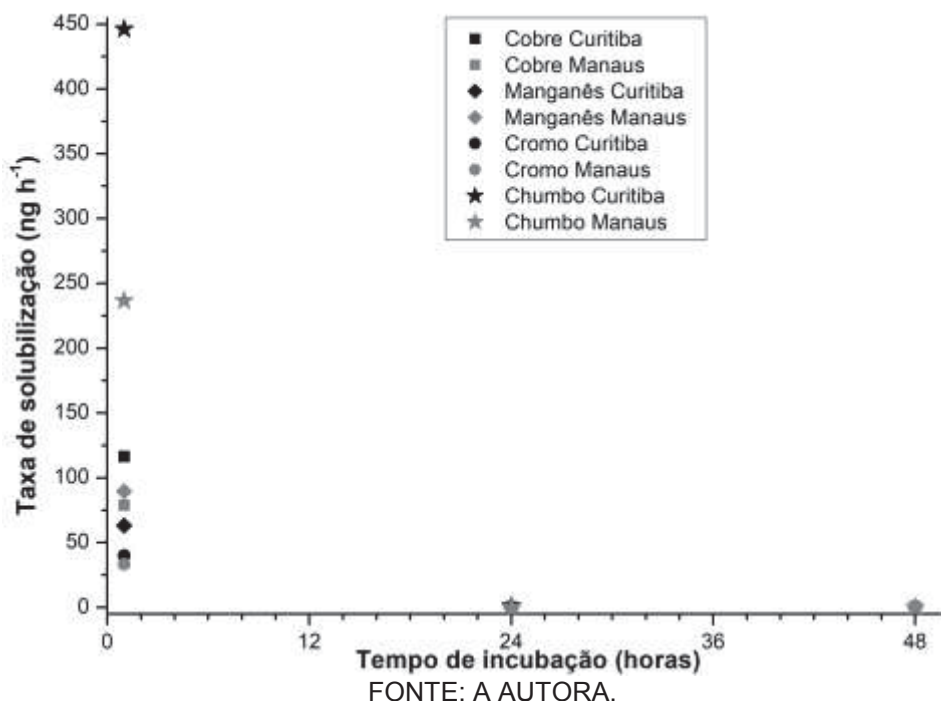
fontes de emissão de Pb das indústrias metalúrgicas e UTEs de carvão, e o valor de 61% de bioacessibilidade do Pb (24 h) da fonte UTEs em um período sem o funcionamento das metalúrgicas. Embora existam semelhanças entre algumas fontes de Pb entre Curitiba (fornos de cal e cimento) com Manaus e Nanjing (TPPs), e Curitiba com Frankfurt (para emissões de tráfego e poeiras de sinalização de ruas), foram observados diferentes valores de bioacessibilidade entre as cidades, sem indicar uma tendência na bioacessibilidade relacionada a fontes específicas. Porém, dados os específicos processos químicos locais do MP<sub>2,5</sub> em geral, essas diferenças poderiam ser esperadas.

#### 4.6 TAXA DE SOLUBILIZAÇÃO

Para avaliar a influência do tempo de incubação na solubilização dos elementos do MP<sub>2,5</sub> no ALF obteve-se a taxa de solubilização (ng h<sup>-1</sup>) entre cada período de tempo avaliado, 1, 24 e 48 horas (FIGURA 21). O comportamento de solubilização de todos os elementos químicos investigados nas amostras de MP<sub>2,5</sub> segue um padrão similar, com uma solubilização máxima da espécie durante a primeira hora e uma aproximação rápida do estado de equilíbrio, com 24 horas da incubação do teste *in vitro*.

Os mecanismos naturais de eliminação das partículas finas nas regiões brônquicas e alveolares dos pulmões iniciam-se respectivamente em torno de 24 horas (HOFMANN e ASGHARIAN, 2003) a dias (GUNEY et al., 2017). Os resultados deste estudo indicaram que a fração mais representativa do MP<sub>2,5</sub> inorgânico solúvel é liberada no fluido pulmonar na primeira hora após a exposição, tornando-os bioacessíveis para eventualmente serem transportados pela região de troca gasosa (alvéolos), adentrando assim pelo corpo, potencializando efeitos sistêmicos à saúde. Esta evidência mostra como a importância da exposição na via inalatória fornece frações bioacessíveis no pulmão e no sistema circulatório.

FIGURA 21- TAXA DE SOLUBILIZAÇÃO ( $\text{ng h}^{-1}$ ) POR TEMPO DE INCUBAÇÃO (HORAS) PARA Cu, Mn, Cr E Pb EM AMOSTRAS DE  $\text{MP}_{2.5}$  DE MANAUS E CURITIBA EXPOSTAS AO FLUIDO PULMONAR SIMULADO ALF



#### 4.7 FRAÇÃO BIOACESSÍVEL INALÁVEL EM PERSPECTIVA

Considerando um cenário onde a mesma exposição de concentração de  $\text{MP}_{2.5}$ , para cada elemento químico em Curitiba e Manaus, por exemplo 100 ng Cu, Mn, Cr e Pb, associado a bioacessibilidade (%) obtida para cada cidade. Uma pessoa na cidade de Curitiba receberia uma dose média de 56 ng de Cu, 15 ng de Mn, 23 ng de Cr e 57 ng de Pb, enquanto em Manaus, o mesmo indivíduo receberia uma dose de 31 ng de Cu, 15 ng de Mn, 46 ng de Cr e 71 ng de Pb. Portanto, em Curitiba, a população exposta ao  $\text{MP}_{2.5}$  poderia estar recebendo um maior aporte Cu que em Manaus, porém menor consumo de Cr, e Pb que em Manaus.

Em vista da bioacessibilidade (%) dos elementos químicos contidos no  $\text{MP}_{2.5}$  imersos em ALF, as concentrações atmosféricas encontradas nas amostras, determinaram o risco global a saúde dos indivíduos devido a exposição em Curitiba e Manaus. Calculou-se a fração bioacessível inalada diária para dois grupos de exposição: crianças com idade entre 1 e 11 anos e aqueles com mais de 11 anos (designadas como adultos). Para tanto, utilizou-se um volume respiratório médio

para nível moderado de atividade de  $0,020 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1}$  para crianças, e de  $0,026 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1}$  para adultos (USEPA, 2011).

A concentração utilizada foi a fração bioacessível de uma hora de incubação em cada caso, pois observou-se que entre 80 e 100% das amostras os elementos se solubilizaram na primeira hora de incubação. A inalação mássica média obtida e os principais riscos à saúde associados para cada elemento químico investigado estão apresentados na TABELA 21.

Como era esperado, a fração bioacessível inalada foi maior em Manaus do que em Curitiba, uma vez que prevaleceram concentrações mais elevadas em Manaus. Isso pode muito provavelmente ser atribuído às diferentes estratégias de desenvolvimento urbano seguidas, como discutido anteriormente.

Apesar do resultado obtido de menor dose inalada bioacessível dos quatro elementos estudados devido a exposição ao  $\text{MP}_{2,5}$  em relação a dose inalada bioacessível de adultos, as crianças (principalmente no início da infância e para fetos) são um grupo de alto risco. A maior vulnerabilidade de saúde desse grupo associada a exposição a poluentes mesmo em pequenas doses pode resultar em doenças, incapacidades e até morte na infância e por toda a vida (LANDRIGAN et al., 2018). O cobre e o manganês são nutrientes essenciais do corpo humano, contudo, o nível de absorção desses nutrientes no corpo é controlado pelo sistema de regulação corporal conhecido como homeostase, principalmente pelo efeito de primeira passagem no fígado. O efeito de primeira passagem ocorre principalmente quando a entrada de uma substância no corpo humano ocorre pelo sistema gastrointestinal, com essa substância atingindo primeiramente o fígado, onde é metabolizada e possivelmente excretada antes de atingir a circulação sistêmica (MEHVAR, 2018). Por exemplo, geralmente até 95% do Mn ingerido é retido no fígado e eliminado do corpo humano, sendo dessa forma em torno de 5% absorvido no sistema circulatório (WHO, 1999). Já a absorção de Cu pode variar de 15% a 95% dependendo das necessidades do corpo (WHO, 1998). No entanto, outras rotas de exposição do corpo humano, como a cutânea e respiratória, disponibilizam a substância absorvida no sistema circulatório/sistêmico sem o efeito de primeira passagem no fígado, ainda que em algum momento na circulação sistêmica essa substância atingirá o fígado, podendo ser metabolizada e excretada.



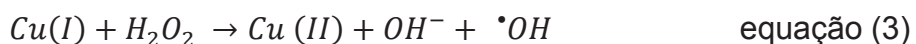
TABELA 21- FRAÇÃO BIOACESSÍVEL DIÁRIA INALADA MÉDIA (ng dia<sup>-1</sup>) DE Pb, Cr, Cu E Mn DE MP<sub>2,5</sub> EM CURITIBA E MANAUS PARA CRIANÇAS (1 A 11 ANOS) E ADULTOS (> 11 ANOS)

Elemento	Fração bioacessível inalada média (ng dia <sup>-1</sup> )		Principais efeitos na saúde	Ref.
	Grupo etário (anos)			
	1 to 11	> 11		
Pb	Curitiba	129	Toxicidade óssea e cerebral Danos no sistema nervoso, desde o desenvolvimento intelectual diminuído em crianças e déficit no desempenho em adultos, até danos cerebrais irreversíveis e morte.	(ATSDR, 2007)
	Manaus	173		
Cr	Curitiba	242	Carcinogênico. A exposição aguda ao Cr (VI) resulta na lesão do trato respiratório e, para exposição crônica, é considerado carcinogênico para humanos na via inalatória.	(WHO, 2013)
	Manaus	323		
Cu	Curitiba	10	Estresse oxidativo. Afeta os sistemas nervoso, hepático, gastrointestinal, principalmente para altas concentrações; Potencial para oxidar e induzir a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS)	(WHO, 1998)
	Manaus	14		
Mn	Curitiba	38	Neurotoxicidade. Manganismo: síndrome neurológica progressiva e incapacitante, com sintomas semelhantes ao parkinson. Também afeta os pulmões e o sistema reprodutivo.	(WHO, 1999)
	Manaus	50		

FONTE: A autora.

Os efeitos deletérios da exposição respiratória ao Cu acentuam os sintomas da doença de Wilson, um distúrbio hereditário raro do processo de regulação da homeostase do Cu, levando a altas concentrações de Cu nos tecidos corporais; e são associados a específicas exposições respiratórias em atividades ocupacionais (WHO, 1998). Além disso, observou-se que o Cu tem o potencial de oxidar e induzir

a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), gerando estresse oxidativo no organismo (BECKER et al., 2005; GODOI et al., 2016). O radical hidroxila, é a espécie reativa de oxigênio mais perigosa, que quando produzida dentro do corpo humano pela reação Fenton (equação 3), causa danos aos tecidos biológicos, incluindo o DNA (CHARRIER e ANASTASIO, 2015).



O Cu inalado tem o maior potencial para causar dano permanente ao DNA, entre metais analisados a partir de amostras de MP atmosférico (CHARRIER e ANASTASIO, 2015). Os autores relataram a produção de radical hidroxila a partir de concentrações ambientais de MP solúveis (em fluido pulmonar simulado) tão baixas quanto  $0,88 \text{ ng m}^{-3}$ . Levando em conta que o presente estudo relata valores de 2,3 e  $1,1 \text{ ng m}^{-3}$  de Cu contido no  $MP_{2,5}$  após uma hora de incubação em Manaus e Curitiba, respectivamente, não é difícil deduzir que a exposição a longo de vários dias poderia resultar na produção de  $\cdot OH$ .

Apesar de o Mn ser um nutriente corporal essencial, a exposição respiratória elevada a longo prazo ao Mn tem sido associada a uma síndrome semelhante à doença de Parkinson, em que danos neurodegenerativos progressivos são causados (WHO, 1999). Estudos realizados com animais (roedores e primatas) observaram o acúmulo de Mn no cérebro devido à eliminação mais lenta do que a de outros órgãos (DROWN, OBERG e SHARMA, 1986; REANEY, KWIK-URIBE e SMITH, 2002). Além disso, pesquisadores observaram uma rota direta do Mn inalado através da cavidade nasal para o cérebro através do nervo olfativo (CROSSGROVE e ZHENG, 2004). Adicionalmente, alguns novos estudos sugeriram que a neurotoxicidade do Mn pode estar associada à sua interação com a homeostase do ferro (Fe), levando à alta deposição de Fe no cérebro. O Fe acumulado no cérebro gera estresse oxidativo celular e dano neural (CROSSGROVE e ZHENG, 2004). O ferro também tem um efeito sinérgico na produção de radical hidroxila em conjunto com Cu (CHARRIER e ANASTASIO, 2015).

Por outro lado, o Cr (VI) e o Pb não são nutrientes essenciais do corpo humano, sendo tóxicos, pequenas quantidades destes podem levar a efeitos adversos graves à saúde.

O chumbo tem uma fração altamente solúvel no fluido pulmonar simulado (WISEMAN e ZEREINI, 2014; GOIX et al., 2016; LI et al., 2016). Devido à capacidade do chumbo de se acumular nos tecidos do corpo (especialmente em ossos e dentes), sua alta toxicidade em níveis muito baixos e uma meia-vida de 20 anos, os resultados obtidos neste estudo, da alta solubilidade em fluido pulmonar do Pb contido no MP<sub>2,5</sub>, são uma preocupação real. Embora os valores reportados neste estudo não estejam próximos de 500 ng m<sup>-3</sup>, espera-se que a exposição a baixas doses em longo prazo tenha um efeito sinérgico na saúde pública em ambas as cidades. Muito mais em Manaus, onde é esperado uma incidência maior de efeitos adversos à saúde (danos às vezes irreversíveis no sistema nervoso e/ou morte) do que em Curitiba (ATSDR, 2007).

O cromo, por outro lado, especialmente o Cr (VI), pode causar lesões no trato respiratório e é classificado como carcinogênico humano na via inalatória (WHO, 2009). O efeito carcinogênico foi sugerido durante a redução da valência química de VI para III pela geração de radicais livres no interior das células, causando danos no DNA (WHO, 2013).

A massa média inalada em Manaus é cerca de duas vezes (de Cu e Pb) e quatro vezes (de Cr e Mn) maior que a de Curitiba. Claramente, a população em Manaus tem maior risco tóxico e carcinogênico do que aqueles em Curitiba.

Contudo, é preciso que algumas ressalvas sejam feitas em relação a simulação de exposição feita devido ao MP<sub>2,5</sub>. A primeira é que tanto em Curitiba quanto Manaus as amostras foram obtidas em um único ambiente externo, porém as atividades diárias de uma pessoa podem variar entre diferentes localidades da cidade e diversos tipos de ambientes. Por exemplo, do período da noite até o início da manhã geralmente se assumem atividades dentro de casa, enquanto durante o dia as pessoas costumam estar em ambientes internos de escolas, trabalho, além do período gasto na rua e carro ou ônibus para transporte entre essas atividades. Pode-se também gastar uma parte das horas do dia para lazer tanto em ambiente externos quanto internos. Por isso o resultado final da exposição de uma pessoa

pode ser variável com os hábitos e atividades desenvolvidas por ela (MOREIRA et al., 2018; KRECL et al., 2019).

A segunda ressalva é que as condições de ventilação e arquitetura dos locais que as pessoas se encontram podem influenciar tanto no acúmulo quanto na dispersão dos poluentes que estão circulando nas proximidades daquele local (GODOI et al., 2013). O estudo desenvolvido por Godoi e colaboradores observou mesma concentração ou acúmulo dos elementos contidos no MP em escolas de Curitiba em relação a concentração encontrada no ambiente externo, onde uma das causas poderia ser devido a insuficiente ventilação no local (GODOI et al., 2013).

É evidente a partir dos resultados que os valores elevados de concentração elementar total não significam necessariamente que a bioacessibilidade será alta. Portanto, é importante identificar e quantificar elementos tóxicos e carcinogênicos no MP e realizar estudos *in vitro* para determinar o risco no ponto de exposição.

Os efeitos deletérios à saúde que uma pessoa está sujeita devido à exposição ao teor de elementos químicos do MP<sub>2,5</sub> é resultado da combinação de duas variáveis: a fração solúvel de cada elemento químico no fluido pulmonar e o nível de concentração de exposição desta substância. A primeira variável depende do tipo da fonte que emitiu o elemento químico e processos que ocorrem na atmosfera durante o tempo de residência, enquanto a segunda variável depende de várias condições, por ex. a concentração do produto químico emitido pela fonte (que pode variar com a hora do dia, dias da semana, ou eventos específicos), bem como as condições atmosféricas de dispersão, etc. No entanto, ambos são determinados devido a modelos específicos de desenvolvimento urbano.

A história do desenvolvimento urbano e econômico (como as principais atividades econômicas industriais em Manaus e serviços em Curitiba), características geográficas (nenhuma disponibilidade de energia hidrelétrica perto de Manaus exigindo o emprego da UTE) e as principais fontes antropogênicas de MP<sub>2,5</sub> (como UTE, tráfego, e as emissões industriais de Manaus, assim como o tráfego e as emissões regional de indústrias para Curitiba) têm influência na fração solúvel específica de cada elemento químico avaliado e, conseqüentemente, na população, diferentes riscos à saúde decorrentes da exposição à poluição do ar.

## 5. CONCLUSÕES

Este estudo mostrou que as estratégias de desenvolvimento urbano de duas cidades diferentes desempenharam um papel significativo na qualidade do ar urbano. Embora Manaus esteja na chamada Amazônia pristina, a política da zona de livre comércio da Zona Franca de Manaus teve um efeito profundo nos níveis de emissão e fontes de MP inalável. Em contraste, Curitiba adotou um planejamento urbano inovador, barato, integrado e sustentável, com estratégias específicas para melhorar o bem-estar de suas comunidades. Portanto, não é surpreendente que ambas as cidades tenham mostrado concentrações de massa de MP<sub>2,5</sub> que são quase idênticas, apesar de Curitiba não estar em um ambiente de pristino. Contudo, as concentrações de massa similares não predizem as diferenças no risco à saúde pública.

O risco à saúde pública entre as duas cidades é diferente, e o risco em Manaus é globalmente maior do que em Curitiba. As frações bioacessíveis inaladas por dia calculadas para crianças e adultos foram duas vezes (Pb e Cu) e quatro vezes (Mn e Cr) mais elevadas em Manaus que em Curitiba. Essas diferenças observadas se dão, em parte, às diferentes estratégias de desenvolvimento urbano adotadas pelas duas cidades. Por isso, destaca-se a importância de considerar a saúde pública e o bem-estar quando as estratégias de desenvolvimento urbano são formadas.

Adicionalmente foram desenvolvidos métodos analíticos para a quantificação dos elementos químicos solubilizados na matriz ALF pela técnica GF AAS, mostrando que é possível desenvolver métodos analíticos com sensibilidade e precisão adequadas necessárias quando comparadas às técnicas analíticas modernas atuais. Os elementos inorgânicos foram quantificados em níveis traço em uma matriz complexa, permitindo sua análise por um método robusto desenvolvido no equipamento GF AAS, simples e mais acessível, sendo uma alternativa para os laboratórios que não possuem equipamentos analíticos modernos e de custo mais elevado.

## REFERÊNCIAS

- ABOU RAFEE, S. A. et al. Contributions of mobile, stationary and biogenic sources to air pollution in the Amazon rainforest: a numerical study with the WRF-Chem model. **Atmos. Chem. Phys.**, v. 17, n. 12, p. 7977-7995, 2017. ISSN 1680-7324.
- AECIC. Associação das Empresas da Cidade Industrial de Curitiba., 2018. Disponível em: < <http://www.aecic.org.br/associados/> >.
- AGARWAL, A. et al. Characterization, sources and health risk analysis of PM<sub>2.5</sub> bound metals during foggy and non-foggy days in sub-urban atmosphere of Agra. **Atmospheric Research**, v. 197, p. 121-131, 2017/11/15/ 2017. ISSN 0169-8095.
- AJTONY, Z. et al. Direct sample introduction of wines in graphite furnace atomic absorption spectrometry for the simultaneous determination of arsenic, cadmium, copper and lead content. **Talanta**, v. 76, n. 3, p. 627-634, 2008. ISSN 0039-9140.
- ANDERSON, J.; THUNDIYIL, J.; STOLBACH, A. Clearing the Air: A Review of the Effects of Particulate Matter Air Pollution on Human Health. **Journal of Medical Toxicology**, v. 8, n. 2, p. 166-175, 2012/06/01 2012. ISSN 1556-9039.
- ANDRADE, F.; ORSINI, C.; MAENHAUT, W. RELATION BETWEEN AEROSOL SOURCES AND METEOROLOGICAL PARAMETERS FOR INHALABLE ATMOSPHERIC PARTICLES IN SAO-PAULO CITY, BRAZIL. **Atmospheric Environment**, v. 28, n. 14, p. 2307-2315, Aug 1994. ISSN 1352-2310.
- ANDRADE, M. D. et al. Vehicle emissions and PM<sub>2.5</sub> mass concentrations in six Brazilian cities. **Air Quality Atmosphere and Health**, v. 5, n. 1, p. 79-88, Mar 2012. ISSN 1873-9318.
- ANDRADE, M. F.; ORSINI, C.; MAENHAUT, W. Receptor Modeling for Inhalable atmospheric particles in São Paulo, Brazil. **Nuclear Instruments & Methods in Physics Research. Section B. Beam Interactions with Materials and Atoms, Holanda.**, v. B75, p. 308-311, 1993.
- ANEEL. **Banco de Informações de Geração: BIG**. Agência Nacional de Energia Elétrica 2014.
- ANGELE-MARTINEZ, C.; GOODMAN, C.; BRUMAGHIM, J. Metal-mediated DNA damage and cell death: mechanisms, detection methods, and cellular consequences. **Metallomics**, v. 6, n. 8, p. 1358-1381, 2014. ISSN 1756-5901.
- ARANA, A. et al. Optimized energy dispersive X-ray fluorescence analysis of atmospheric aerosols collected at pristine and perturbed Amazon Basin sites. **X-Ray Spectrometry**, v. 43, n. 4, p. 228-237, 2014. ISSN 1097-4539.

ARTERIS. Institucional. 2013. Disponível em: <  
<http://www.autopistaregis.com.br/?link=institucional>>. Acesso em: 18/06/2013.

ATSDR. **Toxicological profile for lead**. SERVICES, U. S. D. O. H. A. H.: Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2007.

ATSDR. **Minimal Risk Levels**. Agency for Toxic Substances and Disease Registry 2017.

AVIGO, D. et al. Particulate matter analysis at elementary schools in Curitiba, Brazil. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 391, n. 4, p. 1459-1468, 2008/06/01 2008. ISSN 1618-2650.

AWARD, G. **Globe Sustainable City Award 2010**. Stockholm 2010.

BARBOSA, C. G. G. **Monitoramento de material particulado fino na cidade de Manaus para avaliação de potenciais riscos à saúde da população e caracterização de material particulado em ambiente de floresta (ATTO - AMAZONIAN TALL TOWER OBSERVATORY) - Amazonas, Brasil**. 2014. (Mestre). Departamento de Engenharia Ambiental, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

BARROS-NETO, B. D.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Editora da Unicamp, 2001.

BECKER, S. et al. Seasonal Variations in Air Pollution Particle-Induced Inflammatory Mediator Release and Oxidative Stress. **Environmental Health Perspectives**, v. 113, n. 8, p. 1032-1038, 2005/08/01 2005.

BEESTON, M. P. et al. Characterization of artificially generated PbS aerosols and their use within a respiratory bioaccessibility test. **Analyst**, v. 135, n. 2, p. 351-357, 2010. ISSN 0003-2654.

BORGES, A. R. et al. Investigation of chemical modifiers for the determination of lead in fertilizers and limestone using graphite furnace atomic absorption spectrometry with Zeeman-effect background correction and slurry sampling. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 92, p. 1-8, 2014. ISSN 0584-8547.

BROADWAY, A. et al. Determination of the bioaccessibility of chromium in Glasgow soil and the implications for human health risk assessment. **Science of the Total Environment**, v. 409, n. 2, p. 267-277, 2010. ISSN 0048-9697.

BROOK, R. D. et al. Particulate Matter Air Pollution and Cardiovascular Disease An Update to the Scientific Statement From the American Heart Association. **Circulation**, v. 121, n. 21, p. 2331-2378, Jun 2010. ISSN 0009-7322.



BROWN, R. J. C. et al. UK concentrations of chromium and chromium (VI), measured as water soluble chromium, in PM10. **Atmospheric Environment**, v. 99, p. 385-391, 2014/12/01/ 2014. ISSN 1352-2310.

BURNETT, R. T. et al. An Integrated Risk Function for Estimating the Global Burden of Disease Attributable to Ambient Fine Particulate Matter Exposure. **Environmental Health Perspectives**, v. 122, n. 4, p. 397-403, 2014/04/01 2014.

CALDAS, N. M.; OLIVEIRA, S. R.; GOMES NETO, J. A. Feasibility of internal standardization in the direct and simultaneous determination of As, Cu and Pb in sugar-cane spirits by graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 636, n. 1, p. 1-5, 2009. ISSN 0003-2670.

CALEPA. **Toxic Air Contaminant List with Staff Reports/Executive Summaries, Inorganic Lead TAC - Full Document**. The California Environmental Protection Agency 1997.

CALEPA. **Acute 8-hour and Chronic Reference Exposure Level (REL) Summary**. The California Environmental Protection Agency: Office of Environmental Health Hazard Assessment (OEHHA) 2016.

CANOVA, C. et al. PM10-induced Hospital Admissions for Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease The Modifying Effect of Individual Characteristics. **Epidemiology**, v. 23, n. 4, p. 607-615, Jul 2012. ISSN 1044-3983.

CAO, J. J. et al. Fine Particulate Matter Constituents and Cardiopulmonary Mortality in a Heavily Polluted Chinese City. **Environmental Health Perspectives**, v. 120, n. 3, p. 373-378, Mar 2012. ISSN 0091-6765.

CASTANHO, A. D. A.; ARTAXO, P. São Paulo Aerosol Source Apportionment for Wintertime and Summertime. **Atmospheric Environment Part a-General Topics**, v. 35, p. 4889-4902, 2001.

CCOHS. <http://www.epa.gov/ttn/atw/pollsour.html>. 2017 2001. Disponível em: < [http://www.ccohs.ca/oshanswers/chemicals/how\\_do.html](http://www.ccohs.ca/oshanswers/chemicals/how_do.html) >. Acesso em: 12/06/2013.

CCOYLLO, O. R. S.; ANDRADE, M. F. The influence of meteorological conditions on the behavior of pollution concentration in São Paulo, Brazil. **Environmental Pollution (Barking), Inglaterra**, v. 116, p. 257-263, 2002.

CESARI, D. et al. Seasonal variability of PM2.5 and PM10 composition and sources in an urban background site in Southern Italy. **Science of The Total Environment**, v. 612, p. 202-213, 2018/01/15/ 2018. ISSN 0048-9697.

CHARRIER, J. G.; ANASTASIO, C. Rates of Hydroxyl Radical Production from Transition Metals and Quinones in a Surrogate Lung Fluid. **Environmental Science & Technology**, v. 49, n. 15, p. 9317-9325, 2015/08/04 2015. ISSN 0013-936X.

CHO, H.-S.; CHOI, J. M. Effects of Compact Urban Development on Air Pollution: Empirical Evidence from Korea. **Sustainability**, v. 6, n. 9, 2014. ISSN 2071-1050.

CHOUNG, Y.-J.; KIM, J.-M. Study of the Relationship between Urban Expansion and PM10 Concentration Using Multi-Temporal Spatial Datasets and the Machine Learning Technique: Case Study for Daegu, South Korea. **Applied Sciences**, v. 9, n. 6, 2019. ISSN 2076-3417.

CLANCY, L. et al. Effect of air-pollution control on death rates in Dublin, Ireland: an intervention study. **Lancet**, v. 360, n. 9341, p. 1210-1214, Oct 2002. ISSN 0140-6736.

COLLIER, C. G. et al. Factors affecting the in vitro dissolution of cobalt oxide. **Environmental Health Perspectives**, v. 97, p. 109-113, 1992. ISSN 0091-6765.

COLOMBO, C.; MONHEMIUS, A. J.; PLANT, J. A. Platinum, palladium and rhodium release from vehicle exhaust catalysts and road dust exposed to simulated lung fluids. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 71, n. 3, p. 722-730, 2008. ISSN 0147-6513.

COMMISSION, E. **Commission Decision of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results** C(2002) 3044 2002.

COMMUNITIES, E. implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results. **Official Journal of the European Communities**, v. C(2002) 3044, 2002.

CONAMA. **Dispõe sobre padrões de qualidade do ar**. AMBIENTE, M. D. M.: Conselho Nacional do Meio Ambiente 2018.

CONKE, L. S.; FERREIRA, T. L. Urban metabolism: Measuring the city's contribution to sustainable development. **Environmental Pollution**, v. 202, p. 146-152, 2015/07/01/ 2015. ISSN 0269-7491.

COUFALÍK, P. et al. Determination of the bioaccessible fraction of metals in urban aerosol using simulated lung fluids. **Atmospheric Environment**, v. 140, p. 469-475, 2016/09/01/ 2016. ISSN 1352-2310.

CROSSGROVE, J.; ZHENG, W. Manganese toxicity upon overexposure. **NMR in Biomedicine**, v. 17, n. 8, p. 544-553, 2004/11/01 2004. ISSN 0952-3480.

DA SILVA, L. I. D. et al. Evaluation of bioaccessible heavy metal fractions in PM10 from the metropolitan region of Rio de Janeiro city, Brazil, using a simulated lung fluid. **Microchemical Journal**, v. 118, p. 266-271, 2015/01/01/ 2015. ISSN 0026-265X.

DAMIN, I. C. F. et al. Feasibility of using direct determination of cadmium and lead in fresh meat by electrothermal atomic absorption spectrometry for screening purposes. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 62, n. 9, p. 1037-1045, 2007. ISSN 0584-8547.

DAVIDSON, C. I.; PHALEN, R. F.; SOLOMON, P. A. Airborne particulate matter and human health: A review. **Aerosol Science and Technology**, v. 39, n. 8, p. 737-749, Aug 2005. ISSN 0278-6826.

DENANT-BOEMONT, L.; GAGNÉ, C.; GATÉ, R. Urban spatial structure, transport-related emissions and welfare. **Journal of Environmental Economics and Management**, v. 89, p. 29-45, 2018/05/01/ 2018. ISSN 0095-0696.

DENATRAM. **National department of transit, Cities ministry** 2005.

DER. BR-277 - Curitiba - Paranaguá. 2013. Disponível em: <<http://www.der.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=16>>. Acesso em: 19/06/2013.

DESSUY, M. B. et al. Method development for the determination of lead in wine using electrothermal atomic absorption spectrometry comparing platform and filter furnace atomizers and different chemical modifiers. **Talanta**, v. 74, n. 5, p. 1321-1329, 2008. ISSN 0039-9140.

DESSUY, M. B. et al. Determination of cadmium and lead in beverages after leaching from pewter cups using graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Talanta**, v. 85, n. 1, p. 681-686, 2011. ISSN 0039-9140.

DNIT. **National plan of traffic count. Traffic data.** National department of transport infrastructure 2015.

DROWN, D. B.; OBERG, S. G.; SHARMA, R. P. Pulmonary clearance of soluble and insoluble forms of manganese. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 17, n. 2-3, p. 201-212, 1986/01/01 1986. ISSN 0098-4108.

EC. **Air quality Standards.** ENVIRONMENT: European Commission 2016.

FALTA, T. et al. Bioaccessibility of selected trace metals in urban PM<sub>2.5</sub> and PM<sub>10</sub> samples: a model study. **Anal Bioanal Chem**, v. 390, p. 1149-1157, 2008.

FERREIRA DA SILVA, M. et al. Characterization of Metal and Trace Element Contents of Particulate Matter (PM<sub>10</sub>) Emitted by Vehicles Running on Brazilian Fuels—Hydrated Ethanol and Gasoline with 22% of Anhydrous Ethanol. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 73, n. 13-14, p. 901-909, 2010/05/28 2010. ISSN 1528-7394.

FLUES, M. et al. Toxic elements mobility in coal and ashes of Figueira coal power plant, Brazil. **Fuel**, v. 103, p. 430-436, 2013/01/01/ 2013. ISSN 0016-2361.

FRESCHI, G. P. G. et al. Simultaneous and Direct Determination of As, Bi, Pb, Sb, and Se and Co, Cr, Cu, Fe, and Mn in Milk by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. **Food Analytical Methods**, v. 5, n. 4, p. 861-866, 2012// 2012. ISSN 1936-976X.

GARCÍA, J. C. R. et al. Comparison of palladium–magnesium nitrate and ammonium dihydrogenphosphate modifiers for lead determination in honey by electrothermal atomic absorption spectrometry. **Food Chemistry**, v. 91, n. 3, p. 435-442, 2005. ISSN 0308-8146.

GODOI, R. H. M. et al. Inhale particulate matter from lime industries: Chemical composition and deposition in human respiratory tract. **Atmospheric Environment**, v. 42, n. 30, p. 7027-7033, 2008/09/01/ 2008. ISSN 1352-2310.

GODOI, R. H. M. et al. Healthy environment - indoor air quality of Brazilian elementary schools nearby petrochemical industry. **Science of the Total Environment**, v. 463, p. 639-646, Oct 2013. ISSN 0048-9697.

GODOI, R. H. M. et al. Influence on the oxidative potential of a heavy-duty engine particle emission due to selective catalytic reduction system and biodiesel blend. **Science of The Total Environment**, v. 560-561, p. 179-185, 2016/08/01/ 2016. ISSN 0048-9697.

GOIX, S. et al. Metal concentration and bioaccessibility in different particle sizes of dust and aerosols to refine metal exposure assessment. **Journal of Hazardous Materials**, v. 317, p. 552-562, 2016. ISSN 0304-3894.

GONZÁLEZ, L. T. et al. Determination of trace metals in TSP and PM<sub>2.5</sub> materials collected in the Metropolitan Area of Monterrey, Mexico: A characterization study by XPS, ICP-AES and SEM-EDS. **Atmospheric Research**, v. 196, p. 8-22, 2017/11/01/ 2017. ISSN 0169-8095.

GRAY, J. E. et al. In Vitro Studies Evaluating Leaching of Mercury from Mine Waste Calcine Using Simulated Human Body Fluids. **Environmental Science & Technology**, v. 44, n. 12, p. 4782-4788, 2010. ISSN 0013-936X 1520-5851.

GUNEY, M. et al. Lung bioaccessibility of As, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, and Zn in fine fraction (< 20 µm) from contaminated soils and mine tailings. **Science of the Total Environment**, v. 579, p. 378-386, 2017. ISSN 0048-9697.

HAMEL, S. C. B., B. ; LIOY, P. J. . Bioaccessibility of metals in soils for different liquid to solid ratios in synthetic gastric fluid. **Environmental Science and Technology**, v. 32, p. 358-362, 1998.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 7 ed. LTC, 2008.

HE, L. et al. Relationship between Air Pollution and Urban Forms: Evidence from Prefecture-Level Cities of the Yangtze River Basin. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 18, 2019. ISSN 1660-4601.

HEDBERG, Y. et al. Bioaccessibility, bioavailability and toxicity of commercially relevant iron- and chromium-based particles: in vitro studies with an inhalation perspective. **Particle and Fibre Toxicology**, v. 7, n. 1, p. 23, 2010// 2010. ISSN 1743-8977.

HOEK, G. et al. Association between mortality and indicators of traffic-related air pollution in the Netherlands: a cohort study. **Lancet**, v. 360, n. 9341, p. 1203-1209, Oct 2002. ISSN 0140-6736.

HOFMANN, W. Modelling inhaled particle deposition in the human lung—A review. **Journal of Aerosol Science**, v. 42, n. 10, p. 693-724, 2011/10/01/ 2011. ISSN 0021-8502.

HOFMANN, W.; ASGHARIAN, B. The Effect of Lung Structure on Mucociliary Clearance and Particle Retention in Human and Rat Lungs. **Toxicological Sciences**, v. 73, n. 2, p. 448-456, 2003. ISSN 1096-6080.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Intrumental**. 7. Porto Alegre: Bookman, 2009.

HOLTZCLAW, J. **Curitiba – a model for sustainable development**. Sonoma County Transportation & Land Use Coalition. 2004

HU, X. et al. Bioaccessibility and health risk of arsenic and heavy metals (Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn and Mn) in TSP and PM<sub>2.5</sub> in Nanjing, China. **Atmospheric Environment**, v. 57, p. 146-152, Sep 2012. ISSN 1352-2310.

HU, X. et al. Bioaccessibility and health risk of arsenic, mercury and other metals in urban street dusts from a mega-city, Nanjing, China. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 5, p. 1215-1221, May 2011. ISSN 0269-7491.

HUANG, H. et al. In vitro bioaccessibility and health risk assessment of heavy metals in atmospheric particulate matters from three different functional areas of Shanghai, China. **Science of The Total Environment**, v. 610-611, p. 546-554, 2018/01/01/ 2018. ISSN 0048-9697.

HUANG, X. et al. Risk assessment of bioaccessible trace elements in smoke haze aerosols versus urban aerosols using simulated lung fluids. **Atmospheric Environment**, v. 125, p. 505-511, 2016/01/01/ 2016a. ISSN 1352-2310.

HUANG, X. et al. Bioaccessibility of Airborne Particulate-Bound Trace Elements in Shanghai and Health Risk Assessment. **Frontiers in Environmental Science**, v. 4, p. 76, 2016b. ISSN 2296-665X.

IBGE. Secretaria de atenção a saúde. 2015. Disponível em: < cnes.datasus.gov.br >.

IBGE. **Cidades**: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística 2016.

INFRASTRUTURA, M. D. **Mapa Ferroviário**: Anuário estatístico de transporte 2017.

INMET. **BDMEP - Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa**: National Institute of Meteorology 2016.

INMETRO. **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. DOQ-CGCRE-008 2018.

IRIS. **Chemical Assessment Summary, Manganese**. Integrated Risk Information System: United States Environmental Protection Agency 2002.

IVANENKO, N. B. et al. Determination of Trace Elements in Biological Fluids. **Journal of analytical chemistry**, v. 66, p. 784-799, 2011.

JULIEN, C. et al. Development of an in vitro method to estimate lung bioaccessibility of metals from atmospheric particles. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 13, n. 3, p. 621-630, 2011. ISSN 1464-0325.

KANG, J. E.; YOON, D. K.; BAE, H.-J. Evaluating the effect of compact urban form on air quality in Korea. **Environment and Planning B: Urban Analytics and City Science**, v. 46, n. 1, p. 179-200, 2019/01/01 2017. ISSN 2399-8083.

KARR, C. et al. Effects of subchronic and chronic exposure to ambient air pollutants on infant bronchiolitis. **American Journal of Epidemiology**, v. 165, n. 5, p. 553-560, Mar 2007. ISSN 0002-9262.

KAVOURAS, I. G. et al. Source apportionment of PM10 and PM2.5 in five Chilean cities using factor analysis. **Journal of the Air & Waste Management Association**, v. 51, n. 3, p. 451-464, Mar 2001. ISSN 1047-3289.

KHAN, M. F. et al. Fine particulate matter in the tropical environment: monsoonal effects, source apportionment, and health risk assessment. **Atmos. Chem. Phys.**, v. 16, n. 2, p. 597-617, 2016. ISSN 1680-7324.

KINGSTON, H. M. et al. Determination and evaluation of hexavalent chromium in power plant coal combustion by-products and cost-effective environmental remediation solutions using acid mine drainage. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 7, n. 9, p. 899-905, 2005. ISSN 1464-0325.

KLEIN, S. G. et al. Potential of coculture in vitro models to study inflammatory and sensitizing effects of particles on the lung. **Toxicology in Vitro**, v. 25, n. 8, p. 1516-1534, Dec 2011. ISSN 0887-2333.



KRECL, P. et al. Modelling urban cyclists' exposure to black carbon particles using high spatiotemporal data: A statistical approach. **Science of The Total Environment**, v. 679, p. 115-125, 2019/08/20/ 2019. ISSN 0048-9697.

KREYLING, W. G. Intracellular particle dissolution in alveolar macrophages. **Environmental Health Perspectives**, v. 97, p. 121-126, 1992. ISSN 0091-6765.

LANDRIGAN, P. J. et al. The Lancet Commission on pollution and health. **The Lancet**, v. 391, n. 10119, p. 462-512, 2018/02/03/ 2018. ISSN 0140-6736.

LANGRISH, J. P. et al. Reducing Personal Exposure to Particulate Air Pollution Improves Cardiovascular Health in Patients with Coronary Heart Disease. **Environmental Health Perspectives**, v. 120, n. 3, p. 367-372, Mar 2012. ISSN 0091-6765.

LANZACO, B. L. et al. Analysis of PM<sub>2.5</sub> in Córdoba, Argentina under the effects of the El Niño Southern Oscillation. **Atmospheric Environment**, v. 171, p. 49-58, 2017/12/01/ 2017. ISSN 1352-2310.

LEE, B. K.; HIEU, N. T. Seasonal Variation and Sources of Heavy Metals in Atmospheric Aerosols in a Residential Area of Ulsan, Korea. **Aerosol and Air Quality Research**, v. 11, n. 6, p. 679-688, Nov 2011. ISSN 1680-8584.

LI, M. et al. Seasonal Source Apportionment of PM<sub>2.5</sub> in Ningbo, a Coastal City in Southeast China. **Aerosol and Air Quality Research**, v. 18, n. 11, p. 2741-2752, 2018a. ISSN 1680-8584.

LI, S.-W. et al. Influence of pollution control on lead inhalation bioaccessibility in PM<sub>2.5</sub>: A case study of 2014 Youth Olympic Games in Nanjing. **Environment International**, v. 94, p. 69-75, 2016. ISSN 0160-4120.

LI, V. O. K. et al. Air pollution and environmental injustice: Are the socially deprived exposed to more PM<sub>2.5</sub> pollution in Hong Kong? **Environmental Science & Policy**, v. 80, p. 53-61, 2018/02/01/ 2018b. ISSN 1462-9011.

LOPES, J. M. **Contorno ferroviário aprovado**. Gazeta do Povo 2009.

LUO, X. et al. Pulmonary bioaccessibility of trace metals in PM<sub>2.5</sub> from different megacities simulated by lung fluid extraction and DGT method. **Chemosphere**, v. 218, p. 915-921, 2019/03/01/ 2019. ISSN 0045-6535.

MAGARI, S. R. et al. The association of particulate air metal concentrations with heart rate variability. **Environmental Health Perspectives**, v. 110, n. 9, p. 875-880, Sep 2002. ISSN 0091-6765.

MARGUÍ, E. et al. High-energy polarized-beam EDXRF for trace metal analysis of vegetation samples in environmental studies. **X-Ray Spectrometry**, v. 35, n. 3, p. 169-177, 2006. ISSN 1097-4539.



MARQUES, M. R. C.; LOEBENBERG, R.; ALMUKAINZI, M. Simulated Biological Fluids with Possible Application in Dissolution Testing. **Dissolution Technologies**, p. 15-28, 2011.

MARTIN, S. T. et al. The Green Ocean Amazon Experiment (GoAmazon2014/5) Observes Pollution Affecting Gases, Aerosols, Clouds, and Rainfall over the Rain Forest. **Bulletin of the American Meteorological Society**, v. 98, n. 5, p. 981-997, 2017/05/01 2016. ISSN 0003-0007.

MBENGUE, S.; ALLEMAN, L. Y.; FLAMENT, P. Bioaccessibility of trace elements in fine and ultrafine atmospheric particles in an industrial environment. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 37, n. 5, p. 875-889, 2015/10/01 2015. ISSN 1573-2983.

MEDEIROS, A. S. S. et al. Power plant fuel switching and air quality in a tropical, forested environment. **Atmos. Chem. Phys.**, v. 17, n. 14, p. 8987-8998, 2017. ISSN 1680-7324.

MEHVAR, R. Clearance Concepts: Fundamentals and Application to Pharmacokinetic Behavior of Drugs. **The Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 21, n. 1, p. 88-102, 2018.

MIDANDER, K. et al. Metal release from stainless steel particles in vitro-influence of particle size. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 9, n. 1, p. 74-81, 2007. ISSN 1464-0325.

MIDANDER, K.; WALLINDER, I. O.; LEYGRAF, C. In vitro studies of copper release from powder particles in synthetic biological media. **Environmental Pollution**, v. 145, n. 1, p. 51-59, 2007. ISSN 0269-7491.

MILOJEVIC, A. et al. Socioeconomic and urban-rural differentials in exposure to air pollution and mortality burden in England. **Environmental Health**, v. 16, n. 1, p. 104, 2017/10/06 2017. ISSN 1476-069X.

MINEROPAR. Produção mineral paranaense por municípios., 2018. Disponível em: < <http://www.mineropar.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=58> >.

MOREIRA, C. A. B. et al. Natural variability in exposure to fine particles and their trace elements during typical workdays in an urban area. **Transportation Research Part D: Transport and Environment**, v. 63, p. 333-346, 2018/08/01/ 2018. ISSN 1361-9209.

MUKHTAR, A.; MOHR, V.; LIMBECK, A. The suitability of extraction solutions to assess bioaccessible trace metal fractions in airborne particulate matter: a comparison of common leaching agents. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 21, p. 16620-16630, 2015// 2015. ISSN 1614-7499.

NASCIMENTO, L. F. C. et al. Environmental pollutants and stroke-related hospital admissions. **Cadernos De Saude Publica**, v. 28, n. 7, p. 1319-1324, Jul 2012. ISSN 0102-311X.

NIU, J. J. et al. Concentration Distribution and Bioaccessibility of Trace Elements in Nano and Fine Urban Airborne Particulate Matter: Influence of Particle Size. **Water Air and Soil Pollution**, v. 213, n. 1-4, p. 211-225, Nov 2010. ISSN 0049-6979.

OKORIE, A.; ENTWISTLE, J.; DEAN, J. R. Estimation of daily intake of potentially toxic elements from urban street dust and the role of oral bioaccessibility testing. **Chemosphere**, v. 86, n. 5, p. 460-467, 2012. ISSN 0045-6535.

ONU. **Sustainable Urban Planning (Curitiba City)**. Sustainable Development-United Nations 2011.

OOMEN, A. G. et al. Development of an In Vitro Digestion Model for Estimating the Bioaccessibility of Soil Contaminants. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 44, n. 3, p. 0281-0287, 2003// 2003. ISSN 1432-0703.

OSTRO, B. et al. The Effects of Fine Particle Components on Respiratory Hospital Admissions in Children. **Environmental Health Perspectives**, v. 117, n. 3, p. 475-480, Mar 2009. ISSN 0091-6765.

PEREIRA-FILHO, E. R. **Planejamento fatorial em química: maximizando a obtenção de resultados**. EdUFSCar, 2015.

POLEZER, G. **MATERIAIS ANTROPOGÊNICOS SUSPENSOS NA ATMOSFERA DE CURITIBA**. 2015. (Mestre). Programa de Pós Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

POLEZER, G. et al. Assessing the impact of PM<sub>2.5</sub> on respiratory disease using artificial neural networks. **Environmental Pollution**, v. 235, p. 394-403, 2018/04/01/ 2018. ISSN 0269-7491.

POPE, C. A. et al. MORTALITY RISKS OF AIR-POLLUTION - A PROSPECTIVE COHORT STUDY. **American Review of Respiratory Disease**, v. 147, n. 4, p. A13-A13, Apr 1993. ISSN 0003-0805.

POPE, C. A.; EZZATI, M.; DOCKERY, D. W. Fine-Particulate Air Pollution and Life Expectancy in the United States. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 4, p. 376-386, Jan 2009. ISSN 0028-4793.

POTGIETER-VERMAAK, S. et al. Component-specific toxic concerns of the inhalable fraction of urban road dust. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 34, n. 6, p. 689-696, 2012// 2012. ISSN 1573-2983.

POTGIETER, S. S. et al. Determination of hexavalent chromium in South African cements and cement-related materials with electrothermal atomic absorption

spectrometry. **Cement and Concrete Research**, v. 33, n. 10, p. 1589-1593, 2003/10/01/ 2003. ISSN 0008-8846.

PULS, C.; LIMBECK, A.; HANN, S. Bioaccessibility of palladium and platinum in urban aerosol particulates. **Atmospheric Environment**, v. 55, p. 213-219, Aug 2012. ISSN 1352-2310.

RAIS. **Formal Toxicity Summary for COPPER**: The Risk Assessment Information System 1992.

REANEY, S. H.; KWIK-URIBE, C. L.; SMITH, D. R. Manganese Oxidation State and Its Implications for Toxicity. **Chemical Research in Toxicology**, v. 15, n. 9, p. 1119-1126, 2002/09/01 2002. ISSN 0893-228X.

REYES, M. N. M.; CAMPOS, R. C. Graphite furnace atomic absorption spectrometric determination of Ni and Pb in diesel and gasoline samples stabilized as microemulsion using conventional and permanent modifiers. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 60, n. 5, p. 615-624, 2005. ISSN 0584-8547.

SCHLEMMER, G.; WELZ, B. Palladium and magnesium nitrates, a more universal modifier for graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 41, n. 11, p. 1157-1165, 1986/01/01 1986. ISSN 0584-8547.

SHI, G. T. et al. A comparative study of health risk of potentially toxic metals in urban and suburban road dust in the most populated city of China. **Atmospheric Environment**, v. 45, n. 3, p. 764-771, Jan 2011. ISSN 1352-2310.

SHRIVASTAVA, M. et al. Urban pollution greatly enhances formation of natural aerosols over the Amazon rainforest. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, p. 1046, 2019/03/05 2019. ISSN 2041-1723.

SPOLNIK, Z. et al. Optimization of Measurement Conditions of an Energy Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometer with High-Energy Polarized Beam Excitation for Analysis of Aerosol Filters. **Applied Spectroscopy**, v. 59, n. 12, p. 1465-1469, 2005/12/01 2005. ISSN 0003-7028.

STOPFORD, W. et al. Bioaccessibility testing of cobalt compounds. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 5, n. 4, p. 675-680, 2003. ISSN 1464-0325.

STRANGER, M.; POTGIETER-VERMAAK, S. S.; VAN GRIEKEN, R. Particulate matter and gaseous pollutants in residences in Antwerp, Belgium. **Science of the Total Environment**, v. 407, n. 3, p. 1182-1192, Jan 2009. ISSN 0048-9697.

SUFRAMA. Modelo ZFM, Indústria, Empresas industriais (perfil). 2018. Disponível em: < [http://www.suframa.gov.br/zfm\\_ind\\_perfil.cfm](http://www.suframa.gov.br/zfm_ind_perfil.cfm) >.

SWIETLIK, R. et al. Chromium(III/VI) speciation in urban aerosol. **Atmospheric Environment**, v. 45, n. 6, p. 1364-1368, Feb 2011. ISSN 1352-2310.

SYSALOVÁ, J. et al. Toxicologically important trace elements and organic compounds investigated in size-fractionated urban particulate matter collected near the Prague highway. **Science of The Total Environment**, v. 437, p. 127-136, 2012/10/15/ 2012. ISSN 0048-9697.

TALBI, A. et al. Assessment of annual air pollution levels with PM<sub>1</sub>, PM<sub>2.5</sub>, PM<sub>10</sub> and associated heavy metals in Algiers, Algeria. **Environmental Pollution**, v. 232, p. 252-263, 2018/01/01/ 2018. ISSN 0269-7491.

TANG, Z.-J. et al. Size Distribution, Bioaccessibility and Health Risks of Indoor/Outdoor Airborne Toxic Elements Collected from School Office Room. **Atmosphere**, v. 9, n. 9, 2018. ISSN 2073-4433.

TANNER, P. A.; MA, H. L.; YU, P. K. N. Fingerprinting metals in urban street dust of Beijing, Shanghai, and Hong Kong. **Environmental Science & Technology**, v. 42, n. 19, p. 7111-7117, Oct 2008. ISSN 0013-936X.

TURNER, A. Oral bioaccessibility of trace metals in household dust: a review. **Environmental Geochemistry and Health**, v. 33, n. 4, p. 331-341, 2011// 2011. ISSN 1573-2983.

TWINING, J. et al. Risk Ranking of bioaccessible metals from fly ash dissolved in simulated lung and gut fluids. **Environ Sci Tech**, v. 39, p. 7749-7756, 2005.

USEPA. APTI 435 Atmospheric Sampling Course. In: (Ed.): United States Environmental Protection Agency, 2008. cap. Chapter 4: Particulate Matter Sampling,

USEPA. Air Pollution Emissions Overview. 2011. Disponível em: < <http://www.epa.gov/airquality/emissns.html> >. Acesso em: 10/06/2013.

USEPA. Particulate Matter (PM). 2013. Disponível em: < <http://www.epa.gov/pm/> >. Acesso em: 12/06/2013.

USEPA. **Hazardous Air Pollutants, Health Effects Notebook for Hazardous Air Pollutants**: United States Environmental Protection Agency 2017.

USMANI, Z.; KUMAR, V. Characterization, partitioning, and potential ecological risk quantification of trace elements in coal fly ash. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 18, p. 15547-15566, 2017/06/01 2017. ISSN 1614-7499.

VALE, M. G. R. et al. Determination of cadmium, copper and lead in mineral coal using solid sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy**, v. 56, n. 10, p. 1859-1873, 2001. ISSN 0584-8547.

VIANA, M. et al. Source apportionment of particulate matter in Europe: A review of methods and results. **Journal of Aerosol Science**, v. 39, n. 10, p. 827-849, Oct 2008. ISSN 0021-8502.

VIITAK, A.; VOLYNSKY, A. B. Simple procedure for the determination of Cd, Pb, As and Se in biological samples by electrothermal atomic absorption spectrometry using colloidal Pd modifier. **Talanta**, v. 70, n. 4, p. 890-895, 2006. ISSN 0039-9140.

VOGEL, A. I. **Análise Química Quantitativa**. 6 ed. LTC, 2008.

WARD, R. **Container terminals in jungle city of Manaus face growing pains**. JOC. The Journal of commerce. 2015.

WELZ, B.; SPERLING, M. **Atomic Absorption Spectrometry**. 3 ed. Weinheim: WILEY-VCH, 1999.

WEN, J. et al. PM2.5 source profiles and relative heavy metal risk of ship emissions: Source samples from diverse ships, engines, and navigation processes. **Atmospheric Environment**, v. 191, p. 55-63, 2018/10/01/ 2018. ISSN 1352-2310.

WHO. **Environmental health criteria, Copper. International program on chemical safety**.: World health organization 1998.

WHO. **Manganese and its compounds. Concise international chemical assessment**.: World health organization 1999.

WHO. **Manganese and its compounds: environmental aspects. International program on chemical safety**: World health organization 2004.

WHO. **Inorganic chromium(III) compounds. International program on chemical safety**.: World health organization 2009.

WHO. **Guidelines for indoor air quality: selected pollutants**. Copenhagen World Health Organization 2010.

WHO. **Inorganic chromium(VI) compounds. International program on chemical safety**: World health organization 2013.

WHO. Air Pollution. **World Health Organization**, v. Health Topic, 2015.

WISEMAN, C. L. S.; ZEREINI, F. Characterizing metal(loid) solubility in airborne PM10, PM2.5 and PM1 in Frankfurt, Germany using simulated lung fluids. **Atmospheric Environment**, v. 89, p. 282-289, 2014. ISSN 1352-2310.

WONG, C.-M. et al. The effects of air pollution on mortality in socially deprived urban areas in Hong Kong, China. **Environmental health perspectives**, v. 116, n. 9, p. 1189-1194, 2008. ISSN 0091-6765  
1552-9924.

WU, C. F. et al. Investigating the association of cardiovascular effects with personal exposure to particle components and sources. **Science of the Total Environment**, v. 431, p. 176-182, Aug 2012. ISSN 0048-9697.

ZANOBETTI, A. et al. Fine particulate air pollution and its components in association with cause-specific emergency admissions. **Environmental Health**, v. 8, Dec 2009. ISSN 1476-069X.

ZEREINI, F.; WISEMAN, C. L. S.; PUTTMANN, W. In Vitro Investigations of Platinum, Palladium, and Rhodium Mobility in Urban Airborne Particulate Matter (PM10, PM2.5, and PM1) Using Simulated Lung Fluids. **Environmental Science & Technology**, v. 46, n. 18, p. 10326-10333, Sep 2012. ISSN 0013-936X.

ZHANG, X. Sustainable urbanization: a bi-dimensional matrix model. **Journal of Cleaner Production**, v. 134, p. 425-433, 2016/10/15/ 2016. ISSN 0959-6526.

ZHONG, P. et al. Individual-level modifiers of the acute effects of air pollution on mortality in Wuhan, China. **Global Health Research and Policy**, v. 3, n. 1, p. 27, 2018/09/06 2018. ISSN 2397-0642.